

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

0698901N

JCT60 U.S. PTO
10/025973
12/26/01

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日

Date of Application:

2000年12月26日

出願番号

Application Number:

特願2000-394934

出願人

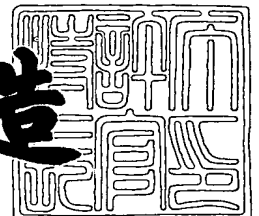
Applicant(s):

オリンパス光学工業株式会社

2001年11月26日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2001-3101731

【書類名】 特許願

【整理番号】 00P02298

【提出日】 平成12年12月26日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 G02B 21/00

【発明者】

 【住所又は居所】 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号
 オリンパス光学工業株式会社内

 【氏名】 福山 宏也

【発明者】

 【住所又は居所】 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号
 オリンパス光学工業株式会社内

 【氏名】 吉田 剛洋

【特許出願人】

 【識別番号】 000000376

 【氏名又は名称】 オリンパス光学工業株式会社

【代理人】

 【識別番号】 100097777

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 荻澤 弘

【選任した代理人】

 【識別番号】 100088041

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 阿部龍吉

【選任した代理人】

 【識別番号】 100092495

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 蛭川昌信

【選任した代理人】

【識別番号】 100092509

【弁理士】

【氏名又は名称】 白井博樹

【選任した代理人】

【識別番号】 100095120

【弁理士】

【氏名又は名称】 内田亘彦

【選任した代理人】

【識別番号】 100095980

【弁理士】

【氏名又は名称】 菅井英雄

【選任した代理人】

【識別番号】 100094787

【弁理士】

【氏名又は名称】 青木健二

【選任した代理人】

【識別番号】 100091971

【弁理士】

【氏名又は名称】 米澤 明

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 014960

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9102411

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 走査型光学顕微鏡

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 光源と、該光源から発する照明光に任意の波面変換を与える波面変換素子と、該波面変換素子から発する波面変換後の照明光を試料に集光する対物レンズと、該試料から発する信号光を検出する検出器と、前記対物レンズを光軸と直交する方向に走査するアクチュエーターとを有することを特徴とする走査型光学顕微鏡。

【請求項 2】 光源と、該光源から発する照明光を収束光に変換する正のパワーを有する光学素子と、開口を有する反射鏡と、該照明光に任意の波面変換を与える反射型の波面変換素子と、該波面変換された照明光を試料に集光する対物レンズと、該試料から発する信号光を検出する検出器とを有することを特徴とする走査型光学顕微鏡。

【請求項 3】 光源と、該光源から発する照明光を収束光に変換する正のパワーを有する光学素子と、前記収束光の集光位置に配置された反射鏡と、該照明光に任意の波面変換を与える反射型の波面変換素子と、該波面変換された照明光を試料に集光する対物レンズと、該試料から発する信号光を検出する検出器とを有することを特徴とする走査型光学顕微鏡。

【請求項 4】 光源と、該光源から発する照明光に任意の波面変換を与える反射型の波面変換素子と、波面変換後の照明光を試料に集光する対物レンズとを備え、前記光源が該試料から発する信号光を検出する検出器であることを特徴とする走査型光学顕微鏡。

【請求項 5】 光源と、該光源から発する照明光に任意の波面変換を与える反射型の波面変換素子と、該波面変換素子から発する波面変換後の照明光を試料に集光する対物レンズと、該試料から発する信号光を検出する検出器とを有し、前記反射型の波面変換素子を下記条件式（４）を満たすように光路中に配置したことを特徴とする走査型光学顕微鏡。

$$\theta_{PR} \leq 50 \cdot NA^{-1} \sqrt{(\lambda \cdot \Delta Z^{-1})} \quad \dots (4)$$

ここで、 θ_{PR} ：前記波面変換素子への主光線の入射角（°）

ΔZ : 焦点移動量

λ : 前記照明光の波長

NA : 前記対物レンズの開口数

である。

【請求項 6】 光源と、前記光源から発する照明光に波面変換を与える反射型の波面変換素子と、該波面変換素子から発する波面変換後の照明光を試料に集光する対物レンズと、該試料から発する信号光を検出する検出器とを有し、前記反射型の波面変換素子の反射面が非球面トーリック面形状に制御されることを特徴とする走査型光学顕微鏡。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、走査型光学顕微鏡に関し、特に、波面変換素子を用いて光軸方向の焦点移動を行うレーザー走査型顕微鏡 (LSM) に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

従来、例えば LSM において、標本の 3 次元像を得るためには、標本又は対物レンズを機械的に光軸方向に移動させて、標本内部の各面における光学像を順次取り込んでいく必要があった。しかし、この方法は機械的駆動を必要とするため、位置制御を高い精度と再現性で実現することは困難である。また、標本を移動させる方法においては、標本が大きい場合は高速走査ができない等の問題があった。

【0003】

さらに、生体標本を観察する際に、対物レンズを標本に直接接触させるかあるいは標本の培養液に浸した状態で対物レンズを走査すると、その振動による悪影響を観察する標本に与えることになり、好ましくない。

【0004】

これらの問題を解決する方法として、特開平 11-101942 号記載のアダプティブ光学装置がある。特開平 11-101942 号のアダプティブ光学装置

は、パワーを変化させることのできる光学素子（波面変換素子）を備えた顕微鏡であって、図 2 7、図 2 8 にその構成を示す。この先行例では、観察光路及び／又は照明光路内に波面変換素子を有し、その波面変換素子を用いて光学系の焦点距離を変化させると共に、この焦点距離変化に伴って生じる収差も補正するものである。こうすることによって、対物レンズと標本との距離を変えることなく、物体空間内での焦点の形成と移動、さらに収差補正を行うことができる。

【 0 0 0 5 】

【発明が解決しようとする課題】

上記従来技術において、物体空間内での焦点移動及び収差補正の作用を有効に機能させるためには、波面変換素子を対物レンズの瞳面又はこれと共役な位置に置くことが好ましい。もし波面変換素子が瞳面と共役でなければ、対物レンズで検出する物体高によって照明光又は結像光が波面変換素子上の異なった位置を通ることになる。焦点移動又は収差補正を行うためには、物体高によって波面形状を変化させなければならないが、できない場合は物体高の高い範囲で画質劣化が大きくなる可能性が高い。

【 0 0 0 6 】

物体高の変化に応じて波面変換素子を最適形状に変化させれば、たとえ波面変換素子が瞳面と共役でなくても、物体高の高い範囲での画質劣化を避けることはできる。しかし、これを実現するには、波面変換を高速かつ回転非対称形状に制御する必要があり、これは非常に困難である。

【 0 0 0 7 】

このような理由により、波面変換素子は瞳と共役な位置に置かれることが望ましい。しかし、これを実施する際には、以下に示す別の問題がある。

【 0 0 0 8 】

顕微鏡観察には多くの種類の対物レンズが用いられるが、瞳の位置はそれぞれ異なる。したがって、複数の対物レンズを切り替えて使用する場合、それらの瞳を波面変換素子と共役であるように保つことは困難である。

【 0 0 0 9 】

また、波面変換素子の位置をレーザー走査部材の位置、さらには対物レンズ瞳

の位置と互いに共役に配置しなければならない。そのため、最低でも2組の瞳リレー光学系を必要とし、大型で複雑な装置になってしまう。

【0010】

また、上記従来技術においては、反射型の波面変換素子を照明・検出光路に組み込んでいるので、図27及び図28に示すように、ビームスプリッターを用いている。したがって、光源として非偏光レーザー、ビームスプリッターとして非偏光タイプを用いた場合は、波面変換素子を1回通る毎に光量が $1/4$ に減少する。

【0011】

すなわち、照明の段階で $1/4$ に、検出の段階で $1/4$ に、トータルで $1/16$ に減少することになる。また、光源として直線偏光レーザー、偏光ビームスプリッター、4分の1波長板を用いれば、照明の段階での損失は防げるが、無偏光状態になる蛍光を観察する際には、(蛍光)検出の段階で $1/2$ に減少する。

【0012】

さらに、上記偏光ビームスプリッター、4分の1波長板を用いる場合でも、光源に直線偏光レーザーを使えるとは限らず、無偏光レーザーを使って蛍光を観察する場合は、照明の段階で $1/2$ に、検出の段階で $1/2$ に、トータルで $1/4$ に減少することになる。

【0013】

本発明は従来の技術が持つ上記問題点を解決するためになされたものであって、その目的は、以下の2項目である。まず、対物レンズ瞳と波面変換素子とが共役に配置されていなくても、軸外での性能劣化が少なく、かつ、波面変換素子の制御方法が極めて簡単であり、さらに、瞳リレー光学系の構成が簡単であるか、あるいは、不要である、波面変換素子を用いたレーザー走査型顕微鏡(LSM)等の走査型光学顕微鏡を提供することである。次に、反射型の波面変換素子を用いる場合であっても、光量の損失が抑えられる、波面変換素子を用いたLSMを提供することである。

【0014】

【課題を解決するための手段】

上記課題を解決するための本発明の第1の走査型光学顕微鏡は、光源と、該光源から発する照明光に任意の波面変換を与える波面変換素子と、該波面変換素子から発する波面変換後の照明光を試料に集光する対物レンズと、該試料から発する信号光を検出する検出器と、前記対物レンズを光軸と直交する方向に走査するアクチュエーターとを有することを特徴とするものである。

【0015】

なお、波面変換素子から発する照明光は略平行な光束になっているのが望ましい。

【0016】

本発明の第2の走査型光学顕微鏡は、前記アクチュエーターが前記対物レンズで光軸と直交する試料の一断面上を走査する場合、前記波面変換素子は、前記照明光に対して一定の波面変換を与えることを特徴とするものである。

【0017】

本発明の第3の走査型光学顕微鏡は、前記対物レンズが光軸と直交する方向へ移動したときの移動量を ΔX とすると、下記条件式(1)を満たすことを特徴とする上記1又は2記載の走査型光学顕微鏡。

【0018】

$$\Delta X \leq 0.66 f_{0B} \cdot \lambda / (\Delta Z \cdot NA^4) \quad \dots (1)$$

ここで、 f_{0B} ：対物レンズの焦点距離

ΔZ ：波面変換素子によって生じる焦点移動量

λ ：照明光の波長

NA ：対物レンズの開口数

である。

【0019】

本発明の第4の走査型光学顕微鏡は、光源と、該光源から発する照明光を収束光に変換する正のパワーを有する光学素子と、開口を有する反射鏡と、該照明光に任意の波面変換を与える反射型の波面変換素子と、該波面変換された照明光を試料に集光する対物レンズと、該試料から発する信号光を検出する検出器とを有することを特徴とするものである。

【 0 0 2 0 】

本発明の第 5 の走査型光学顕微鏡は、第 4 の走査型光学顕微鏡における開口を有する反射鏡を含む光学系が、下記条件式 (2) を満たすことを特徴とするものである。

【 0 0 2 1 】

$$r_{Hmin} / r_{Minc} \leq 0.5 \quad \dots (2)$$

ここで、 r_{Hmin} ：光軸から反射鏡部エッジまでの長さの最小値

r_{Minc} ：開口を有する反射鏡に入射する波面変換された照明光の半径である。

【 0 0 2 2 】

本発明の第 6 の走査型光学顕微鏡は、光源と、該光源から発する照明光を収束光に変換する正のパワーを有する光学素子と、前記収束光の集光位置に配置された反射鏡と、該照明光に任意の波面変換を与える反射型の波面変換素子と、該波面変換された照明光を試料に集光する対物レンズと、該試料から発する信号光を検出する検出器とを有することを特徴とするものである。

【 0 0 2 3 】

本発明の第 7 の走査型光学顕微鏡は、第 6 の走査型光学顕微鏡における反射鏡を含む光学系が、下記条件式 (3) を満たすことを特徴とするものである。

【 0 0 2 4 】

$$r_{Mmin} / r_{Ainc} \leq 0.5 \quad \dots (3)$$

ここで、 r_{Mmin} ：光軸から反射鏡部エッジまでの長さの最小値

r_{Ainc} ：反射鏡の位置における波面変換された照明光の半径である。

【 0 0 2 5 】

本発明の第 8 の走査型光学顕微鏡は、光源と、該光源から発する照明光に任意の波面変換を与える反射型の波面変換素子と、波面変換後のレーザービームを試料に集光する対物レンズとを備え、前記光源が該試料から発する信号光を検出する検出器であることを特徴とするものである。

【 0 0 2 6 】

本発明の第 9 の走査型光学顕微鏡は、光源と、該光源から発する照明光に任意の波面変換を与える反射型の波面変換素子と、該波面変換素子から発する波面変換後の照明光を試料に集光する対物レンズと、該試料から発する信号光を検出する検出器とを有し、前記反射型の波面変換素子を下記条件式 (4) を満たすように光路中に配置したことを特徴とするものである。

【 0 0 2 7 】

$$\theta_{PR} \leq 50 \cdot NA^{-1} \sqrt{(\lambda \cdot \Delta Z^{-1})} \quad \dots (4)$$

ここで、 θ_{PR} ：前記波面変換素子への主光線の入射角 (°)

ΔZ ：焦点移動量

λ ：前記照明光の波長

NA ：前記対物レンズの開口数

である。

【 0 0 2 8 】

本発明の第 10 の走査型光学顕微鏡は、光源と、前記光源から発する照明光に波面変換を与える反射型の波面変換素子と、該波面変換素子から発する波面変換後の照明光を試料に集光する対物レンズと、該試料から発する信号光を検出する検出器とを有し、前記反射型の波面変換素子の反射面が非球面トーリック面形状に制御されることを特徴とするものである。

【 0 0 2 9 】

【発明の実施の形態】

以下に、本発明の走査型光学顕微鏡の具体的な構成と作用を図を用いて説明する。なお、説明に用いる図中において、繰り返し用いられる同一の要素には同一の記号を付し、重複する説明は行わない。また、光源としてレーザー発振器を使用したレーザー走査型顕微鏡 (LSM) で説明する。

【 0 0 3 0 】

第 1 発明の走査型光学顕微鏡の基本構成、Z スキャン (光軸方向のスキャン) 時の物点移動による波面収差、バリエーションを図 1 ～図 4 を参照して説明する。

【 0 0 3 1 】

LSMは、図1に示す構成によって実現することができる。図1において、レーザー光源6は、照明光2を発生する。照明光2は、コリメーションレンズ4によって平面波に変換され、ビームスプリッター21を透過し、補正前照明光15として波面変換素子5に入射する。波面変換素子5では、後述する所定の波面変換がなされ、補正後照明光17として射出し、対物レンズ7によって球面波に変換され、試料9上の一点を照明する。その反射光は、再び対物レンズ7で集光され、補正前観察光18として波面変換素子5に入射し、再び所定の波面変換がなされ、平面波である補正後観察光16として射出する。そして、ビームスプリッター21で反射し、凸レンズ28によって集光され、観察光3として光検出器29に入射する。

【0032】

対物レンズ7は、その物体側焦点Fに物体面が一致しているときに収差が最も小さくなる、いわゆる無限遠補正型である。また、対物レンズアクチュエータ8は対物レンズ7をX-Y方向に走査する。

【0033】

ここで、波面変換素子5は、照明光の波面を変換することができるので、図2(a)のように、補正後照明光17を発散光波面13とし、合焦位置を物体側焦点Fよりも遠い+側移動焦点11に移動することができる。また、逆に、図2(b)のように、補正後照明光17を収束光波面14とし、合焦位置を物体側焦点Fよりも近い-側移動焦点12に移動することもできる。すなわち、対物レンズ7や試料9を動かさずに、合焦位置を移動させることができる。

【0034】

また、対物レンズ7は、対物レンズアクチュエータ8によってX-Y方向に走査されるので、物体側焦点Fを、図3のように、X-Y方向に移動することができる。

【0035】

すなわち、本装置は、レーザー光を集光し、その合焦位置を空間的に移動させ、試料9からの光を観察光として検出する、いわゆるレーザー走査型顕微鏡として機能する。

【0036】

ここで、図2(a)、(b)に示した焦点位置の移動における波面変換素子5の作用について説明する。

【0037】

対物レンズ7は無限遠補正型なので、照明光源が有限な距離にある場合には、焦点位置が物体側焦点Fからずれるのみならず、球面収差が増大する。したがって、+側移動焦点11及び-側移動焦点12において、良好な結像をさせるためには、対物レンズ7に入射する発散光波面13及び収束光球面14が近軸焦点を移動させる成分に加えて、その近軸焦点の移動に伴って発生する球面収差を補正する成分を有することが望ましい。

【0038】

この球面収差補正成分について、図4を用いて説明する。対物レンズ7における物体側焦点Fの近傍で、距離 ΔZ だけ隔てた光軸上の点Qに傾角 u の光線が集光するとき、物体側焦点Fに対する波面収差 W は、下記式(5)で表される。

【0039】

$$W = W_F + W_{SA} \quad \dots (5)$$

$$\text{ここで、} W_F = -2 \Delta Z \sin^2 (u/2)$$

$$W_{SA} = -2 \Delta Z \sin^4 (u/2)$$

である。ここで、 W_F はいわゆる像点移動の波面収差であり、 W_{SA} はこの像点移動に伴って発生する球面収差の波面収差表示である。これら W_F や W_{SA} はハーシェルの条件から導き出される。すなわち、図2(a)、(b)における+側移動焦点11や-側移動焦点12において、球面収差の補正された像を得るためには、波面変換素子5によって、補正前照明光15に対し、上記式(5)で表わされる波面収差 W 相当の波面変換を与えればよい。

【0040】

次に、上記図1で示した構成のバリエーションについて説明する。上記図1では、レーザー光源手段と光検出手段として、別々の素子に各役割を持たせたが、一つの素子が光源と光検出の両方の役割を果たすこともできる。すなわち、光源として半導体レーザーチップを用いると、これは同時に光検出器として機能する

ことも可能である。よって、このような場合は、ビームスプリッター 21 は不要となり、いわゆるレーザーフィードバック顕微鏡を構成する。また、光源にガスレーザーを用いた場合は、その射出ビームは細い平行光であるから、ビームエキスパンダーをコリメーションレンズ 4 の代わりに用いればよい。

【 0 0 4 1 】

また、波面変換素子 5 としては、液晶セル等を用いた透過型でもよいし、メンブレンミラーのような反射型でもよい。また、ここでは、波面変換素子 5 に入射する補正前照明光 15 を平行光としたが、発散光や収束光でもよい。

【 0 0 4 2 】

また、光検出光路を照明光路と重ねて配置する必要は必ずしもなく、試料 9 の裏側に配置して透過光を検出してもよいし、試料 9 の側面に配置して散乱光を検出してもよい。特に、光源 6 としてパルスレーザーを用い、試料 9 を 2 光子蛍光観察を行う際には、2 光子蛍光固有の非線型特性により、非共焦点光学系でも光軸方向の分解能が得られる。このような場合には、光の検出効率を向上させるためにも、光検出器は照明光路よりも試料自体の近くに配置することが望ましい。

【 0 0 4 3 】

第 2 発明の走査型光学顕微鏡に関し、図 5 を参照して説明する。ここでは、X-Y スキャン時に波面が一定であることを、瞳と波面変換素子が共役な位置関係になっているの場合と、瞳が非共役な位置関係になっているの場合のそれぞれについて説明する。

【 0 0 4 4 】

まず、対物レンズ 7 の走査が像に及ぼす影響について説明する。対物レンズ 7 は、対物レンズアクチュエーター 8 によって X-Y 方向に走査されるが、この走査の間に波面変換素子 5 によって与えられる波面変換量は、前記式 (5) に示された量である。そして、本発明走査型光学顕微鏡では、X、Y の値によらず一定にしている。

【 0 0 4 5 】

対物レンズ 7 は無限遠補正型なので、図 3 のように、補正後照明光 17 が平面波である場合は、対物レンズ 7 を X-Y 方向に走査しても、結像特性が劣化する

ことはない。しかし、図2 (a)、(b)のように、焦点移動を行った状態で、さらにX-Y方向の走査を行うと、結像特性が劣化する。図5は、図2 (b)において、 ΔX なるX走査を行った状態を示したものである。ここで、39は理想波面、14は前述の収束光波面である。 $\Delta X=0$ の場合は、収束光波面14と理想波面39は一致するが、 $\Delta X \neq 0$ の場合は、図中 ΔW で示される波面のずれを生じる。このずれは、集光点Qに対する波面収差に他ならない。この波面収差 ΔW は結像性能に影響するが、所定の範囲内であれば実用上問題なく、ストレール強度比が70%以上であればよい。

【0046】

表1～表3は、上記のように焦点移動と対物レンズのX-Y方向の走査を同時に行った場合について、種々の条件における結像特性の変化をシミュレーションした結果である。

【0047】

表1は、波面変換素子と対物レンズの瞳が共役になるように配置し、 $\Delta Z=0.05$ (mm) とするための最適な波面変換Wを与え、その場合のストレール強度比が70%以上となる ΔX の範囲を、以下の光の波長及びNAについて求めたものである。光の波長830 nm、546.7 nm、248 nm、NA0.5～0.9。なお、対物レンズは焦点距離 $f_{OB}=3$ (mm) の無収差対物レンズである。

【0048】

表2は、同様に $f_{OB}=10$ (mm)、 $\Delta Z=0.05$ (mm) とし、表3は、 $f_{OB}=20$ (mm)、 $\Delta Z=0.15$ (mm) とし、NA0.5～0.7について求めたものである。

【0049】

表1 ($f_{OB}=3$ (mm), $\Delta Z=0.05$ (mm), 瞳共役)

波長 (nm)	NA	ΔX (STR=70%)

	0.5	0.432
	0.6	0.255
830	0.7	0.144
	0.8	0.080
	0.9	0.040
	0.5	0.314
	0.6	0.176
546.07	0.7	0.099
	0.8	0.051
	0.9	0.026
	0.5	0.158
	0.6	0.083
248	0.7	0.043
	0.8	0.023
	0.9	0.011

【0050】

表2 ($f_{0B}=10$ (mm), $\Delta Z=0.05$ (mm), 瞳共役)

波長 (nm)	NA	ΔX (STR=70%)
	0.5	1.348
	0.6	0.815
830	0.7	0.451
	0.8	0.243
	0.9	0.113

	0.5	0.988
	0.6	0.558
546.07	0.7	0.300
	0.8	0.151
	0.9	0.073
	0.5	0.507
	0.6	0.258
248	0.7	0.131
	0.8	0.069
	0.9	0.033

【0051】

表3 ($f_{OB}=20$ (mm), $\Delta Z=0.15$ (mm), 瞳共役)

波長 (nm)	NA	ΔX (STR=70%)
	0.5	1.113
830	0.6	0.587
	0.7	0.309
	0.5	0.737
546.07	0.6	0.393
	0.7	0.200
	0.5	0.346
248	0.6	0.172

	0.7	0.091	
--	-----	-------	--

【 0 0 5 2 】

これらの表において、例えば波長 5 4 6 . 0 7 nm、NA 0 . 7 の結果に着目すると、表 1 では、 $\Delta X = 0.099$ (mm)、表 2 では、 $\Delta X = 0.300$ (mm)、表 3 では、 $\Delta X = 0.200$ (mm) である。これらの視野 ΔX の範囲では、上記の波面収差 ΔW が十分に小さいと言えるため、この範囲内で X-Y 走査を行えば、走査に応じて波面を変化させる必要はない。すなわち、波面を一定に保ったままでも、良好な結像性能が得られる。これらのことは他の波長、NA においても言える。

【 0 0 5 3 】

上記表 1 ~ 表 3 は、対物レンズの瞳と波面変換素子とが共役になるように構成した場合の結果である。次に、両者が共役な位置関係になっていない場合について、以下に説明する。

【 0 0 5 4 】

表 4 は、対物レンズの瞳と波面変換素子との共役関係を崩していった場合の結像特性の変化を示すものである。対物レンズが $f_{OB} = 10$ (mm)、NA 0 . 7 の無収差対物レンズである。この対物レンズについて、その瞳と波面変換素子との距離を 0 から 300 mm まで変化させた場合の、 $\Delta X = 0 \sim 0.3$ (mm) におけるストレーल強度比を求めてある (波長 5 4 6 . 0 7 nm)。

【 0 0 5 5 】

表 4 ($f_{OB} = 10$ (mm), NA = 0 . 7, 波長 5 4 6 . 0 7 nm)

ΔZ (mm)	瞳	対物~波面変 調素子間距離	ΔX (mm)			
		(mm)	0	0.1	0.2	0.3
	共役	0	(STR)=1	0.96	0.86	0.701

		10	1	0.96	0.96	0.701
		30	1	0.96	0.86	0.701
0.05	非共役	100	1	0.96	0.865	0.702
		125	0.991	0.953	0.86	0.701
		150	0.979	0.94	0.841	0.681
		200	0.815	0.792	0.75	0.632
	共役	0	1	0.956	0.845	0.671
		10	1	0.955	0.842	0.668
		30	1	0.955	0.842	0.667
-0.05		100	1	0.955	0.842	0.667
	非共役	125	1	0.955	0.842	0.667
		150	1	0.955	0.839	0.667
		200	1	0.955	0.84	0.658
		300	1	0.955	0.838	0.658

【0056】

表4の結果より、本方式では、対物レンズの瞳と波面変換素子の位置関係が共役でなくても、軸外での像の劣化が少ないことが分かる。例えば $\Delta X = 0.2$ (mm)の走査範囲では、瞳が200mm離れていても、0.75以上のストレーल強度比が得られることが分かる。

【0057】

以上のように、本方式は、光軸と直交する方向、すなわち、X方向に対物レンズを走査する場合に、波面変換素子によって与えられる波面変換が一定であることを特徴とする。しかしながら、X-Y平面内の2次元スキャンにおいても本方式が適用されることは言うまでもない。

【0058】

第3発明の走査型光学顕微鏡について、対物レンズのスキャン範囲を、図6、図7を参照して説明する。

【0059】

上記のように対物レンズのX-Y走査は結像特性に影響を及ぼす。しかしながら、所定の範囲ならば、この影響は実用上問題なく、十分な結像性能が得られる、すなわち、ストレーल強度比が0.7以上になる走査幅 ΔX は、諸条件によって変化するが、下記式によって求めることができる。

【0060】

$$\Delta X \leq 0.66 f_{OB} \cdot \lambda / (\Delta Z \cdot NA^4) \quad \dots (1)$$

ここで、 f_{OB} ：対物レンズの焦点距離

ΔZ ：波面変換素子によって生じる焦点移動量

λ ：照明光の波長

NA ：対物レンズの開口数

である。

【0061】

上記表1及び表2の結果を、上記式(1)の曲線と合わせて、それぞれ図6及び図7に示す。図6、図7より、式(1)の曲線は、表1、表2の結果と一致することが分かる。すなわち、本発明では、対物レンズの走査片側振幅 ΔX を、式(1)を満足するように制御している。これにより、波面を一定に保った状態で良好な結像性能が得られる。

【0062】

第4発明及び第5発明の走査型光学顕微鏡について、開口を有する反射鏡について説明する。

【0063】

まず、第4発明の走査型光学顕微鏡について、光量損失を低減させる基本構成、そのバリエーションを図8、図9を参照して説明する。

【0064】

波面変換素子によって焦点移動を行い、かつ、光量の損失が極めて少なく、明

るい像が得られるLSMは、図8の構成によって実現できる。この構成において、レーザー光源6は照明光2を発し、その照明光2はビームエキスパンダー20によって拡大され、ビームスプリッター21を透過し、凸レンズ22で集光される。集光された光は、開口25と反射面24を有する反射鏡42（以下、開口を有する反射鏡と言う。）に入射し、開口25を透過して反射型波面変換素子26に入射する。反射型波面変換素子26で反射される際に波面変換を受けた照明光は、反射面24で反射され、コリメーションレンズ27で略平行光となり、対物レンズ7によって試料9上に集光される。試料9からの観察光は逆の経路をたどり、ビームスプリッター21で反射し、凸レンズ28で光検出器29に集光される。

【0065】

ここで、反射型波面変換素子26によって焦点移動及びこれに伴う球面収差の補正がなされること、及び、アクチュエーター8によって対物レンズ7のX-Y走査がなされることは、前記図1の例と同様である。

【0066】

ここでは、反射型波面変換素子26に照明光を導く手段として、開口を有する反射鏡42を用いている。よって、図27、図28の従来技術で用いられているビームスプリッターと異なり、光量の損失を極めて少なくすることができる。また、絞られたビームが開口25を通過するので、この開口サイズを適切に設定することにより、共焦点効果を得ることができる。この共焦点効果は、蛍光試料の観察に特に有効である。蛍光観察を行う際には、ビームスプリッター21の代わりに、適切な波長特性を有するダイクロイックミラーを用いることが望ましい。

【0067】

図9は、開口を有する反射鏡を用いた別の実施例の構成を示す。ここでは、開口を有する反射鏡として、2つの直角プリズムと反射面よりなる開口を有する反射プリズム23を用いる。開口を有する反射プリズム23は2つのプリズムの接合面に反射面24が形成され、その一部に開口25が設けられている。また、半導体レーザーチップ1を光源兼光検出器として用い、いわゆるレーザーフィードバック顕微鏡を構成している。

【 0 0 6 8 】

照明光 2 は、ビームエキスパンダーを用いずに凸レンズ 3 0 のみを用いて開口 2 5 に集光している。その他の構成は、図 8 と同様である。また、反射型波面変換素子 2 6 による焦点移動及びこれに伴う球面収差の補正、アクチュエーター 8 による対物レンズ 7 の X - Y 走査、及び、開口を有する反射鏡 2 3 による光量損失低減の作用、効果も、図 8 の構成と同じである。

【 0 0 6 9 】

なお、対物レンズの切り換えに伴う対物レンズの瞳位置の変動や、瞳リレー光学系により装置が大型化する問題があるが、開口を有する反射鏡をビームスキャン型 L S M に適用することも可能である。これを、以下に示す。

【 0 0 7 0 】

図 1 0 は、開口を有する反射鏡を用いる別の実施例の構成を示す。ここでは、ガルバノミラー 4 7 を走査手段として用い、2 組の瞳リレー光学系 4 6 によって、対物レンズ瞳 4 5、ガルバノミラー 4 7、反射型波面変調素子 2 6 が共役になるように配置している。不図示の部分は、図 8 の構成と同様である。

【 0 0 7 1 】

この開口を有する反射鏡 4 2 は、図 8、図 9 に示した対物レンズ走査方式の L S M のみならず、図 1 0 に示したガルバノミラー等によるビームスキャン方式の L S M においても、反射型波面変調素子による焦点移動を行う際には、光量損失を減らす上で極めて有効である。ビームスキャンの手段として、ガルバノミラーの他に、ポリゴンミラーや A O M (音響光学素子) を同様に適用できることはもちろんである。

【 0 0 7 2 】

次に、第 5 発明の走査型光学顕微鏡について、図 1 1 ~ 図 1 3 を参照して説明する。第 5 発明の走査型光学顕微鏡の構成は図 8、図 9 と同じである。ここでは、開口 2 5 に関して述べる。

【 0 0 7 3 】

図 8、図 9 で示した開口を有する反射鏡が、いかに照明光を波面変換素子へ効率良く導くことができるかを、図 1 1、図 1 2 (a) 及び図 1 3 を併用して以下

に説明する。

【0074】

図8、図9において、照明光2は、開口を有する反射鏡42又は開口を有する反射プリズム23に入射するとき、レンズ22あるいはレンズ30で集光する。このとき、集光位置と開口25が一致するように、開口を有する反射鏡42又は開口を有する反射プリズム23を配置する。このように配置することで、照明光は開口25を通過するので、開口25を通過あるいは透過する際の光量損失はほとんどない。照明光は開口25を通過すると発散光となり、反射型波面変換素子26で反射される。反射された光は補正後照明光17となり、さらに発散して反射面24で反射する。このとき、照明光の一部は反射せずに開口25を通過するので、ここで光量損失が発生する。この様子を図11に示す。開口25における損失量は、反射型波面変換素子26と平行な面40において評価することができる。補正後照明光17のビーム外径が面40と交わって作る輪郭の半径を r_{Minc} 、開口25を透過する補正後照明光17が面40と交わって作る輪郭の半径を r_H とすると、半径 r_H の範囲が補正後照明光17の中の損失分である。照明光の中、半径 r_H 以上、ビーム半径 r_{Minc} 以下の範囲を、反射面24で100%反射するとすれば、反射率 η_H は次のように計算される。

【0075】

補正後照明光17が、図13のようなビーム半径 r_{Minc} のガウシアンビームであるとする、その強度分布 $I(r)$ は次式で表わされる。

【0076】

$$I(r) = I_0 \cdot \exp(-2r^2 / r_{\text{Minc}}^2) \quad \dots (6)$$

式(6)より、半径 r 内の強度の積分値 $E(r)$ は次のように表わされる。

【0077】

$$\begin{aligned} E(r) &= 2\pi \int_0^r I(r) \cdot r dr \\ &= 0.5 I_0 \cdot r_{\text{Minc}}^2 \cdot \pi \{1 - \exp(-2r^2 / r_{\text{Minc}}^2)\} \\ &\quad \dots (7) \end{aligned}$$

前述のように、補正後照明光 17 の中、半径 r_H の範囲が失われるので、ビーム半径 r_{Minc} 範囲内の全光量を基準にすると、(7) 式より、反射率 η_H 、すなわち効率 は次のように表わされる。

【0078】

$$\begin{aligned}\eta_H &= \{E(r_{Minc}) - E(r_H)\} / E(r_{Minc}) \\ &= \{\exp(2 - 2r_H^2 / r_{Minc}^2) - 1\} / \{\exp(2) - 1\} \\ &\dots (8)\end{aligned}$$

上記 (8) 式より、 η_H は r_H と r_{Minc} の比で決まることが分かる。

【0079】

(r_H / r_{Minc}) と η_H との関係を表 5 に示す。

【0080】

表 5 (開口を有する反射鏡における光量の反射率)

r_H / r_{Minc}	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
η_H	0.977099	0.911083	0.809487	0.683287	0.544946

r_H / r_{Minc}	0.6	0.7	0.8	0.9
η_H	0.406420	0.277536	0.165037	0.072356

【0081】

表 5 より、(r_H / r_{Minc}) ≤ 0.5 であれば、 $\eta_H \geq 0.54$ となる。また、(r_H / r_{Minc}) が小さい程 η_H は大きくなり、そして (r_H / r_{Minc}) = 0.1 においては $\eta_H = 0.977$ に達し、極めて反射率が高い、すなわち光の損失が少ないことが分かる。

【0082】

従来技術で用いられるビームスプリッターの場合、照明光を波面変換素子へ導くために、比較的損失の少ない偏光ビームスプリッターを用いたとしても、仮に光源からの光がランダム偏光だとすると、ランダム偏光を直線偏光に変換する際に光量の少なくとも半分が損なわれる。これに対して、本発明では、偏光、非偏光に関わらず光学系を $(r_H / r_{Minc}) \leq 0.5$ となるようにすることで、 $\eta_H \geq 0.54$ となる。この結果、従来のビームスプリッターよりも効率良く照明光を波面変換素子へ導くことができる。

【 0 0 8 3 】

ここでは、図 1 2 (a) における開口 2 5 の形状を半径 r_H の円形として説明したが、上記光量損失低減の効果はこれに限られない。例えば、楕円、多角形、星型、スリット、不規則形状等であっても、光軸が開口内を通っていれば、効率的に照明光を波面変換素子へ導くことができる。開口の形状が円形以外である場合、その反射鏡部エッジ（反射面と開口の境界）から光軸までの長さの最小値 r_{Hmin} を r_H とみなせばよい。これを、図 1 2 (b) 、 (c) に示す。

【 0 0 8 4 】

以上より、開口を有する反射鏡を含む光学系が下記式 (2) を満たすことが望ましい。

【 0 0 8 5 】

$$r_{Hmin} / r_{Minc} \leq 0.5 \quad \dots (2)$$

ここで、 r_{Hmin} ：光軸から反射鏡部エッジまでの長さの最小値

r_{Minc} ：開口を有する反射鏡に入射する波面変換された照明光の半径である。なお、式 (2) を満たす光学系は、光源から対物レンズに至る光学系のことである。

【 0 0 8 6 】

さらに、特筆すべきは、本発明における開口 2 5 が対物レンズ 7 の焦点位置と共焦点の関係にあるために、共焦点信号を検出して共焦点顕微鏡観察を行うことが極めて容易なことである。もちろん、その場合には、開口 2 5 の形状・寸法を観察光のエアリーディスク径に合わせる等、共焦点観察に適したものにすることが望ましい。開口 2 5 を共焦点観察に適合させる場合、その寸法は必然的に小さ

くなるので、 (r_H / r_{Minc}) も極めて小さくなる。したがって $\eta \approx 1$ となり、光量損失はほとんど皆無となる。

【 0 0 8 7 】

第 6 発明及び第 7 発明の走査型光学顕微鏡について説明する。

【 0 0 8 8 】

第 6 発明において、光量損失を低減させる基本構成のバリエーションを図 1 4 を参照して説明する。波面変換素子によって焦点移動を行い、かつ、光量の損失が極めて少なく明るい像が得られる別の L S M は、図 1 4 の構成によって実現できる。

【 0 0 8 9 】

レーザー光源 6 は照明光 2 を発し、その照明光 2 はビームスプリッター 2 1 を透過する。そして、凸レンズ 3 0 を経て反射面を有するプリズム 3 1 に入射し、反射面 3 2 上に集光し、反射する。次に、照明光は発散光となって、反射型波面変換素子 2 6 に入射し、ここで波面変換を受ける。反射型波面変換素子 2 6 を射出した照明光は反射面を有するプリズム 3 1 を透過し、コリメーションレンズ 2 7 で略平行光となり、対物レンズ 7 によって試料 9 上に集光される。試料 9 からの観察光は逆の経路をたどり、ビームスプリッター 2 1 で反射し、光検出器 2 9 に集光される。反射型波面変換素子 2 6 によって焦点移動及びこれに伴う球面収差の補正がなされ、アクチュエーター 8 によって対物レンズ 7 の X - Y 走査がなされることは、前記図 1、図 8、図 9 の例と同様である。

【 0 0 9 0 】

ここでは、反射型波面変換素子 2 6 へ照明光を導く手段として、収束ビームの集光位置に配置された反射面を有する光学素子、すなわち、反射面を有するプリズム 3 1 を用いている。そのため、図 2 7、図 2 8 の従来技術で用いられているビームスプリッターと異なり、光量の損失が極めて少ない。そして、試料 9 中の、反射面 3 2 と共役な領域から発した反射光は、観察光 3 として光検出器 2 9 に達する。逆に、共役な領域以外から発した反射光は光検出器 2 9 に達しない。すなわち、共焦点光学系と同様の作用を呈する。反射面 3 2 のサイズを適切に設定することにより、共焦点効果を得ることができる。また、この共焦点効果は、蛍

光試料の観察に特に有効である。蛍光観察を行う際には、ビームスプリッター 21 の代わりに、適切な波長特性を有するダイクロイックミラーを用いることが望ましい。

【0091】

反射面を有する光学素子、例えばここで説明した反射面を有するプリズム 31 は、図 14 に示した対物レンズ走査方式の LSM のみならず、ガルバノミラー等によるビームスキャン方式の LSM においても、反射型波面変調素子 26 による焦点移動を行う際には、光量損失を減らす上で極めて有効である。

【0092】

第 7 発明の走査型光学顕微鏡について、図 15、図 16 を参照して反射鏡形状に関して説明する。

【0093】

図 14 で示した反射面を有する光学素子が、いかに効率良く照明光を波面変換素子に導くことができるかを、図 13、図 15、図 16 を併用して以下に説明する。

【0094】

図 14 において、照明光 2 は反射面を有するプリズム 31 に入射するとき、レンズ 30 によって収束し、その焦点位置に設けられた反射面 32 で反射する。反射面 32 で反射する際の光量損失はほとんどない。照明光 2 は反射面 32 で反射すると発散光となり、反射型波面変換素子 26 に入射する。反射型波面変換素子 26 で反射した照明光は補正後照明光 17 となり、さらに発散して反射面を有するプリズム 31 を透過する。このとき、照明光の一部は透過せずに反射面 32 で反射するので、これが損失となる。

【0095】

この様子を図 15 に示す。反射面 32 における損失量は、反射型波面変換素子 26 と平行な面 41 において評価することができる。補正後照明光 17 のビーム外径が面 41 と交わって作る輪郭の半径を r_{Ainc} 、反射面 32 で反射する補正後照明光 17 が面 41 と交わって作る輪郭の半径を r_M とすると、半径 r_M の範囲が補正後照明光 17 の中の損失分である。補正後照明光のうち、半径 r_M 以上、

r_{Ainc} 以下の範囲が、反射面を有するプリズム31を100%透過し、かつ、照明光17が図13のようなビーム半径 r_{Ainc} のガウシアンビームであるとする。すると、ここでの透過率 η_M は、前記図8、図9における開口を有する反射鏡の反射率 η_H を表わす式(8)と全く同様にして求まり、次のように、式(8)における r_H を r_M に、そして r_{Minc} を r_{Ainc} に置き換えるだけでよい。

【0096】

$$\begin{aligned}\eta_M &= \{E(r_{Ainc}) - E(r_M)\} / E(r_{Ainc}) \\ &= \{\exp(2 - 2r_M^2 / r_{Ainc}^2) - 1\} / \{\exp(2) - 1\} \\ &\dots (9)\end{aligned}$$

言うまでもなく、式(9)における η_M と r_{Ainc} 及び r_M の関係は、前記式(8)における η_H と r_{Minc} 及び r_H の関係と同様である。したがって、 (r_M / r_{Ainc}) と η_M との関係は、表5における (r_H / r_{Minc}) と η_H との関係と一致する。

【0097】

ここでは、図16における反射面の形状を半径 r_M の円形として説明したが、光量損失低減の効果はこれに限られない。例えば、楕円、多角形、星型、スリット、不規則形状等であっても、光軸が反射面内を通っていれば、効率的に照明光を波面変換素子まで導くことができる。また、反射面32は必ずしも光透過部材(平行平板やプリズム)上に形成される必要はない。例えば、必要な面積の反射面を有する微小な反射部材を支持部材で支持してもよい。反射面の形状が円形以外である場合、その反射鏡部エッジから光軸までの長さの最小値 r_{Mmin} を r_M とみなせばよい。

【0098】

以上から、反射面を含む光学系が下記式(3)を満たすことが望ましい。

【0099】

$$r_{Mmin} / r_{Ainc} \leq 0.5 \quad \dots (3)$$

ここで、 r_{Mmin} ：光軸から反射鏡部エッジまでの長さの最小値

r_{Ainc} ：反射鏡の位置における波面変換された照明光の半径である。

【0100】

第8発明の走査型光学顕微鏡について、光量損失低減及び小型化に関して図17、図18を参照して説明する。

【0101】

波面変換素子によって焦点移動を行い、かつ、光量の損失が極めて少なく明るい像が得られる別のLSMは、図17の構成によって実現できる。

【0102】

支持部材34によって支持された光学素子43は、発光部と受光部の両方の機能を有する。光学素子43から発した照明光2は、コリメーションレンズ33を経て反射型波面変換素子26に入射し、ここで波面変換を受けて反射する。反射した光は再びコリメーションレンズ33を透過し、略平行光となり、対物レンズ7によって試料9上に集光される。試料9からの観察光は逆の経路をたどり、再び光学素子43に集光される。本構成でも、反射型波面変換素子26によって焦点移動及びこれに伴う球面収差の補正がなされ、アクチュエーター8によって対物レンズ7のX-Y走査がなされることは前記図1、図8、図9、図14の例と同様である。

【0103】

ここでは、発光部兼受光部である光学素子43を光路中に配置することによって、図27、図28の従来技術で用いられているビームスプリッターをなくした。この場合、光学素子43や支持部材34として遮光性の低いものを用いることにより、光量損失を低減することができる。例えば、光学素子43として半導体レーザーチップを用いれば、その外径は小さく、本例のように光路中に配置しても光を遮る面積は小さい。さらに、半導体レーザーチップに光源素子と光検出素子の両機能を持たせれば、いわゆるレーザーフィードバック顕微鏡として構成することができる。また、支持部材34としては、ガラス等の透明基板を用いればよい。

【0104】

図18は、本方式の別の実施例である。ここでは、光ファイバー36の先端をコリメーションレンズ35の中心に取り付けてある。光ファイバー36の他端は

、不図示のレーザー光源及び光検出器に接続されている。したがって、コリメーションレンズに取り付けられた光ファイバー36の先端は、前記図17における光学素子43と同様に機能する。光ファイバー36は細く作ることができるので、本例のように光路中に配置しても、光路を遮る面積が小さく、光量損失を低減することができる。その他の構成は前記図17と同様であり、反射型波面変換素子26によって焦点移動及びこれに伴う球面収差の補正がなされ、アクチュエーター8によって対物レンズ7のX-Y走査がなされる。

【0105】

第9発明の走査型光学顕微鏡について、図19、図20及び表6を参照して説明する。第9発明の走査型光学顕微鏡は、光量損失低減のバリエーションであって、照明光が波面変換素子に対して斜めから入射するように構成したものである。

【0106】

波面変換素子によって焦点移動を行い、かつ、光量の損失がなく、明るい像が得られるLSMは、図19の構成によって実現できる。レーザー光源6は照明光2を発し、コリメーションレンズ4で平行光に変換され、ビームスプリッター21を透過し、反射型波面変換素子26に入射角 θ_{PR} で入射する。反射型波面変換素子26で波面変換を受けて反射した照明光は、対物レンズ7によって試料9上に集光される。試料9からの観察光は逆の経路をたどり、ビームスプリッター21で反射し、凸レンズ28で光検出器29に集光される。

【0107】

なお、反射型波面変換素子26によって焦点移動及びこれに伴う球面収差の補正がなされ、アクチュエーター8によって対物レンズ7のX-Y走査がなされることは、前述のものと同様である。

【0108】

また、蛍光観察を行う際には、ビームスプリッター21の代わりに、適切な波長特性を有するダイクロイックミラーを用いることが望ましい。この場合、図27の従来技術に比べて効率良く蛍光を検出できる。また、図28の従来技術に比べて効率良く照明光を試料に導くことができる。

【0109】

また、この反射型波面変換素子に対して光束を斜めに入射する配置は、ここに示した対物レンズ走査方式のLSMのみならず、ガルバノミラー等によるビームスキャン方式のLSMにおいても、光量損失を減らす上で極めて有効である。

【0110】

図20は、反射型波面変換素子に対して照明光を斜めに入射する配置の別の実施例である。ここでは、光ファイバー36の先端を対物レンズ7の光軸から距離aだけ離れた位置に置く。光ファイバー36の他端は、不図示のレーザー光源及び光検出器に接続されている。したがって、この光ファイバー端部は発光部と受光部の両方の機能を有する。光ファイバー36から発した照明光2は、凸レンズ37でコリメーションされ、反射型波面変換素子26に対して入射角 θ_{PR} で入射する。そして、ここで波面変換を受けて反射し、再びコリメーションレンズ37を透過し、略平行光となり、対物レンズ7によって試料9上に集光される。試料9からの観察光は逆の経路をたどり、再び光ファイバー36の端部に集光され、不図示の検出器で検出される。本構成で、反射型波面変換素子26によって焦点移動及びこれに伴う球面収差の補正がなされ、アクチュエータ8によって対物レンズ7のX-Y走査がなされることは、前述のものと同様である。

【0111】

本構成においては、発光部となる光ファイバーを細く作ることができるので、図中の距離aを小さくすることができる。また、コリメーションレンズ37として、その焦点距離 f_{37} の長いものを選ぶことが設計上可能である。これは、反射型波面変換素子26に対する入射角 θ_{PR} が小さくできることを意味し、後述する結像性能の観点から優れている。

【0112】

ここで、 θ_{PR} と結像性能の関係について説明する。反射型波面変換素子は、光線の入射角度が 0° の場合、回転対称形状の波面変換を行うことによって、集光位置における球面収差を完全に補正することができる。しかし、入射角度が大きくなると軸外収差の成分が発生するため、十分な補正ができなくなる。この結果、像が劣化する。しかしながら、入射角がある範囲内であればこの劣化は無視で

きる程に小さい。

【0113】

そこで、対物レンズの瞳と共役な位置に反射型波面変換素子を傾けて配置し、焦点移動と球面収差補正を行った場合に、ストレル強度比が0.7以上となる入射角 θ_{PR} の上限値をシミュレーションによって求めた。その結果を表6～表9に示す。なお、対物レンズは無限遠型の理想対物レンズである。

表6 (斜入射角度 θ (°) (STR=70%), $f_{OB}=10$ (mm), $\Delta Z=0.05$ (mm), 瞳共役)

		NA		
		0.3	0.5	0.7
	830	23	13	8.5
波長 (nm)	546.07	18.5	10.5	7
	248	11	7	4.5

【0114】

表7 (斜入射角度 θ (°) (STR=70%), NA=0.5, $\Delta Z=0.05$ (mm), 波長546.07 (nm), 瞳共役)

f_{OB} (mm)	3	10	20
θ	11	10.5	10.5

【0115】

表8 (斜入射角度 θ (°) (STR=70%), NA=0.5, $f_{OB}=10$ (m

m) , 波長 5 4 6 . 0 7 (n m) , 瞳共役)

ΔZ (mm)	0 . 0 2	0 . 0 5	0 . 1	0 . 2
θ	1 6 . 5	1 0 . 5	7 . 5	5 . 5

【 0 1 1 6 】

表 9 (斜入射角度 θ (°) (STR=70%) , $f_{OB}=3$ (mm) , $\Delta Z=0.02$ (mm) , 瞳共役)

	NA			
	0 . 3	0 . 5	0 . 7	
	8 3 0	3 5	2 0 . 5	1 4
波長 (nm)	5 4 6 . 0 7	2 9	1 7	1 1 . 5
	2 4 8	2 0	1 1 . 5	7 . 5

【 0 1 1 7 】

これより、 θ_{PR} の上限はNA、波長、 ΔZ の関数であり、対物レンズの焦点距離 f_{OB} には関係がないことが分かり、次式(4)で表わされる。

【 0 1 1 8 】

$$\theta_{PR} \leq 50 \cdot NA^{-1} \sqrt{(\lambda \cdot \Delta Z^{-1})} \quad \dots (4)$$

ここで、 θ_{PR} ：波面変換素子への主光線の入射角 (°)

ΔZ ：焦点移動量

λ ：照明光の波長

NA：対物レンズの開口数

である。

【 0 1 1 9 】

上記表 6 及び表 9 結果を、上記式 (4) の曲線と合わせてそれぞれ図 2 1 及び図 2 2 に示す。

【 0 1 2 0 】

図 2 1、図 2 2 より、式 (4) の曲線は表 6、表 9 の結果と一致することが分かる。すなわち、反射型波面変換素子への入射角 θ_{PR} は、式 (4) によって決めることができる。

【 0 1 2 1 】

第 1 0 発明の走査型光学顕微鏡について、トーリック面を用いた光量損失の低減に関して、図 2 3 ～図 2 6、及び、表 1 0 を参照して説明する。

【 0 1 2 2 】

波面変換素子によって焦点移動を行い、かつ、光量の損失がなく、明るい像が得られる別の LSM は、図 2 3 の構成によって実現できる。なお、以下の説明で用いる非球面トーリック面とは、面形状に関して、直交する 2 つの対称面を有し、かつ、これらの対称面と交わる曲線が非球面の断面形状で表わされるものを意味する。

【 0 1 2 3 】

レーザー光源 6 は照明光 2 を発し、コリメーションレンズ 4 で平行光に変換され、ビームスプリッター 2 1 を透過し、非球面トーリック面形状に制御される反射型波面変換素子 4 4 (以下、トーリック面波面変換素子と略称する。) に斜めに入射する。照明光はトーリック面波面変換素子 4 4 で波面変換を受けて反射し、対物レンズ 7 によって試料 9 上に集光される。試料 9 からの観察光は逆の経路をたどり、ビームスプリッター 2 1 で反射し、凸レンズ 2 8 で光検出器 2 9 に集光される。

【 0 1 2 4 】

ここで、トーリック面波面変換素子 4 4 によって焦点移動及びこれに伴う球面収差の補正がなされる。

【 0 1 2 5 】

また、アクチュエータ 8 によって対物レンズ 7 の X-Y 走査がなされることは

前述のものと同様である。

【0126】

蛍光観察を行う際には、ビームスプリッター21の代わりに、適切な波長特性を有するダイクロイックミラーを用いることが望ましい。

【0127】

このトーリック面波面変換素子44に対して光束を斜めに入射する配置は、ここに示した対物レンズ走査方式のLSMのみならず、ガルバノミラー等によるビームスキャン方式のLSMにおいても、光量損失を減らす上で極めて有効である。

【0128】

ここで、波面変換素子の面形状としてなぜ非球面トーリック面を用いるかについて説明する。

【0129】

反射型波面変換素子を図23に示す配置で用い、焦点移動をさせる場合、収差を完全に補正するためには、波面変換素子の面形状を自由曲面形状に制御することが望ましい。しかし、自由曲面は形状に対称性を持たないため、必要な形状を光の波長オーダーの精度で正確に実現することは容易ではない。ところで、本願発明者は、図23の配置において、実際に必要とされる反射型波面変換素子の形状を解析した結果、確かに必要な形状は厳密には自由曲面であるが、高い対称性を持ち、非球面トーリック面に極めて近いことを見出した。このことを、図24～図26を用いて説明する。

【0130】

図24は、反射型波面変換素子44を有する対物レンズ走査型顕微鏡のモデルである。ビーム径 $\phi 4.2\text{ mm}$ 、波長 830 nm の平行照明光が、長径 5.94 mm 、短径 4.20 mm の楕円形有効径を有する反射型波面変換素子44に、入射角 45° で入射する。照明光は波面変換を受け、光路を 90° 曲げられ光軸上で 10 mm 離れて位置する対物レンズ7に入射する。対物レンズ7は、焦点距離 3 mm 、 $\text{NA } 0.7$ の理想対物レンズである。そして、この集光位置が、物体側焦点Fから $\Delta Z = 0.04\text{ (mm)}$ 離れた位置に移動するように、反射型波面変

換素子44の面形状を形成する。このとき、反射型波面変換素子44の面形状が自由曲面形状である場合と非球面トーリック面形状である場合を比較する。

【0131】

図25は、反射型波面変換素子44の面形状が自由曲面である場合の反射面形状の等高線図（単位： μm ）である。また、図26は上記の自由曲面から $\xi-\zeta$ 平面と $\eta-\zeta$ 平面を対称面とする非球面トーリック面を差し引いた形状の等高線図である。なお、図25、図26においては、長径5.6mm、短径3.9mmの楕円範囲を太線で示す。また、同範囲内での等高線を細線で示す。図25より、この反射面形状には、 $\xi-\zeta$ 平面に関してわずかに非対称な成分が認められる（ $\eta-\zeta$ 平面に関しては、対称であることが自明）。最大変位は8 μm である。

【0132】

一方、図26における最大変位は、プラス側が+0.04 μm 、マイナス側が-0.06 μm であり、何れも上記自由曲面の最大変位8 μm の1%以下である。

【0133】

上記非球面トーリック面と自由曲面との形状の差が、実用上問題がないことを以下に示す。

【0134】

図24において、トーリック面波面変換素子44を置いた状態で、対物レンズ7に $\phi 3\text{mm}$ の絞り48を付加し、絞り48と対物レンズ7を一体的にX-Y方向に走査した場合のストレーल強度比を求めた。その結果を表10(a)、(b)に示す。ここで、結像特性のXY方向の分布に関して、X軸に関しては非対称、Y軸に関しては対称であることが自明なので、表10(a)において $\Delta X=0\sim+0.5\text{ (mm)}$ 、表10(b)において $\Delta Y=-0.5\sim+0.5\text{ (mm)}$ の範囲で求めた。

表10(a) ($f_{0B}=3\text{ (mm)}$, $NA=0.5$, 波長830(nm), $\Delta Z=0.04\text{ (mm)}$, $\Delta Y=0\text{ (mm)}$)

$\Delta X\text{ (mm)}$	STR

0	0. 9 9 7
0. 2	0. 9 3 5
0. 4	0. 7 5 4
0. 5	0. 6 2 8

表 1 0 (b) ($f_{OB}=3$ (mm) , $NA=0. 5$, 波長 8 3 0 (nm) , $\Delta Z=0. 0 4$ (mm) , $\Delta X=0$ (mm))

ΔX (mm)	STR
0. 5	0. 5 8 5
0. 4	0. 7 1 5
0. 2	0. 9 1 2
0	0. 9 9 7
-0. 2	0. 9 5 8
-0. 4	0. 7 9 3
-0. 5	0. 6 7 2

【 0 1 3 5 】

これより、 $\Delta X=\pm 0. 4$ (mm) 、 $\Delta Y=\pm 0. 4$ (mm) の範囲においては、ストレール強度比が 0. 7 以上となり、非球面トーリック面でも十分な結像性能が得られることが分かる。

【 0 1 3 6 】

以上の本発明の走査型光学顕微鏡は例えば次のように構成することができる。

【 0 1 3 7 】

〔 1 〕 光源と、該光源から発する照明光に任意の波面変換を与える波面変換素子と、該波面変換素子から発する波面変換後の照明光を試料に集光する対物

レンズと、該試料から発する信号光を検出する検出器と、前記対物レンズを光軸と直交する方向に走査するアクチュエーターとを有することを特徴とする走査型光学顕微鏡。

【0138】

〔2〕 前記波面変換素子は、前記アクチュエーターが前記対物レンズで光軸と直交する試料の一断面上を走査する場合、前記照明光に対して一定の波面変換を与えることを特徴とする上記1記載の走査型光学顕微鏡。

【0139】

〔3〕 前記対物レンズが光軸と直交する方向へ移動したときの移動量を Δx とすると、下記条件式(1)を満たすことを特徴とする上記1又は2記載の走査型光学顕微鏡。

【0140】

$$\Delta X \leq 0.66 f_{OB} \cdot \lambda / (\Delta Z \cdot NA^4) \quad \dots (1)$$

ここで、 f_{OB} ：対物レンズの焦点距離

ΔZ ：波面変換素子によって生じる焦点移動量

λ ：照明光の波長

NA ：対物レンズの開口数

である。

【0141】

〔4〕 光源と、該光源から発する照明光を収束光に変換する正のパワーを有する光学素子と、開口を有する反射鏡と、該照明光に任意の波面変換を与える反射型の波面変換素子と、該波面変換された照明光を試料に集光する対物レンズと、該試料から発する信号光を検出する検出器とを有することを特徴とする走査型光学顕微鏡。

【0142】

〔5〕 前記開口を有する反射鏡を含む光学系が、下記条件式(2)を満たすことを特徴とする上記4記載の走査型光学顕微鏡。

【0143】

$$r_{Hmin} / r_{Minc} \leq 0.5 \quad \dots (2)$$

ここで、 r_{Hmin} ：光軸から反射鏡部エッジまでの長さの最小値

r_{Minc} ：開口を有する反射鏡に入射する波面変換された照明光の半径である。

【0 1 4 4】

〔6〕 光源と、該光源から発する照明光を収束光に変換する正のパワーを有する光学素子と、前記収束光の集光位置に配置された反射鏡と、該照明光に任意の波面変換を与える反射型の波面変換素子と、該波面変換された照明光を試料に集光する対物レンズと、該試料から発する信号光を検出する検出器とを有することを特徴とする走査型光学顕微鏡。

【0 1 4 5】

〔7〕 前記反射鏡を含む光学系が、下記条件式（3）を満たすことを特徴とする上記 6 記載の走査型光学顕微鏡。

【0 1 4 6】

$$r_{Mmin} / r_{Ainc} \leq 0.5 \quad \dots (3)$$

ここで、 r_{Mmin} ：光軸から反射鏡部エッジまでの長さの最小値

r_{Ainc} ：反射鏡の位置における波面変換された照明光の半径である。

【0 1 4 7】

〔8〕 光源と、該光源から発する照明光に任意の波面変換を与える反射型の波面変換素子と、波面変換後の照明光を試料に集光する対物レンズとを備え、前記光源が該試料から発する信号光を検出する検出器であることを特徴とする走査型光学顕微鏡。

【0 1 4 8】

〔9〕 光源と、該光源から発する照明光に任意の波面変換を与える反射型の波面変換素子と、該波面変換素子から発する波面変換後の照明光を試料に集光する対物レンズと、該試料から発する信号光を検出する検出器とを有し、前記反射型の波面変換素子を下記条件式（4）を満たすように光路中に配置したことを特徴とする走査型光学顕微鏡。

【0 1 4 9】

$$\theta_{PR} \leq 50 \cdot NA^{-1} \sqrt{(\lambda \cdot \Delta Z^{-1})} \quad \dots (4)$$

ここで、 θ_{PR} ：前記波面変換素子への主光線の入射角（°）

ΔZ ：焦点移動量

λ ：前記照明光の波長

NA ：前記対物レンズの開口数

である。

【0150】

【10】 光源と、前記光源から発する照明光に波面変換を与える反射型の波面変換素子と、該波面変換素子から発する波面変換後の照明光を試料に集光する対物レンズと、該試料から発する信号光を検出する検出器とを有し、前記反射型の波面変換素子の反射面が非球面トーリック面形状に制御されることを特徴とする走査型光学顕微鏡。

【0151】

【発明の効果】

本発明の波面変換素子を用いたレーザー走査型顕微鏡（LSM）等の走査型光学顕微鏡は、下記効果をもたらす。

【0152】

第1の走査型光学顕微鏡は、光軸と直交する方向の走査を対物レンズの走査によって行うので、波面変換素子によって焦点移動がなされている場合であっても、軸外での結像性能の劣化が少なく、かつ、装置の構成上も、対物レンズ瞳が波面変換素子と共役でなくてもよい。

【0153】

第2の走査型光学顕微鏡は、対物レンズを光軸と直交する方向に走査する場合に、波面変換素子が照明光に与える波面変換を変化させる必要がないので、波面変換素子の駆動制御が容易になる。

【0154】

第3の走査型光学顕微鏡は、波面変換素子による焦点移動を行い、かつ、良好な結像特性を有するLSMが得られる。

【0155】

第 4 ～ 第 7 の走査型光学顕微鏡は、反射型波面変換素子を用いながら光量の損失が少ない L S M が得られる。

【 0 1 5 6 】

第 8 の走査型光学顕微鏡は、反射型波面変換素子を用いながら光量の損失が少なく、かつ、小型の L S M が得られる。

【 0 1 5 7 】

第 9 ～ 第 1 0 の走査型光学顕微鏡は、反射型波面変換素子を用いながら光量の損失がない L S M が得られる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

本発明の波面変換素子による焦点移動と対物レンズ駆動による X - Y 走査をするレーザー走査型顕微鏡の構成を示す図である。

【図 2】

波面変換素子による + 側移動焦点及び - 側移動焦点を説明するための図である。

【図 3】

対物レンズの X - Y 走査を説明するための図である。

【図 4】

焦点移動の波面収差を説明するための図である。

【図 5】

対物レンズの走査の波面収差を説明するための図である。

【図 6】

ストレール強度比が 0. 7 以上になる走査幅 ΔX ($f_{OB} = 3$ (mm) の場合) のシミュレーション結果と (1) の曲線と合わせて示す図である。

【図 7】

ストレール強度比が 0. 7 以上になる走査幅 ΔX ($f_{OB} = 10$ (mm) の場合) のシミュレーション結果と (1) の曲線と合わせて示す図である。

【図 8】

反射型波面変換素子と開口付き反射鏡を有する 1 実施例のレーザー走査型顕微

鏡の構成を示す図である。

【図 9】

反射型波面変換素子と開口付き反射鏡を有する他の実施例のレーザー走査型顕微鏡の構成を示す図である。

【図 10】

ガルバノミラーと反射型波面変換素子と開口付き反射鏡を有する実施例のレーザー走査型顕微鏡の構成を示す図である。

【図 11】

開口付き反射鏡における光の損失を説明するための図である。

【図 12】

開口付き反射鏡におけるビーム径と開口の投影形状を示す図である。

【図 13】

ガウシアンビームの強度分布図である。

【図 14】

反射型波面変換素子と反射鏡を有する実施例のレーザー走査型顕微鏡の構成を示す図である。

【図 15】

反射鏡における光の損失を説明するための図である。

【図 16】

反射鏡におけるビーム径と反射面の投影形状を示す図である。

【図 17】

反射型波面変換素子と発光部兼受光部である開口を有する実施例のレーザー走査型顕微鏡の構成を示す図である。

【図 18】

反射型波面変換素子と光ファイバーを有する実施例のレーザー走査型顕微鏡の構成を示す図である。

【図 19】

反射型波面変換素子に光束を斜入射させる実施例のレーザー走査型顕微鏡の構成を示す図である。

【図 2 0】

反射型波面変換素子にコリメーションレンズを介して光束を斜入射させる実施例のレーザー走査型顕微鏡の構成を示す図である。

【図 2 1】

ストレル強度比が 0.7 以上になる斜入射角度 $\Delta \theta_{PR}$ ($\Delta Z = 0.05$ (m)) の場合) のシミュレーション結果と (4) の曲線と合わせて示す図である。

【図 2 2】

ストレル強度比が 0.7 以上になる斜入射角度 $\Delta \theta_{PR}$ ($\Delta Z = 0.02$ (m)) の場合) のシミュレーション結果と (4) の曲線と合わせて示す図である。

【図 2 3】

非球面トーリック面の反射型波面変換素子を用いる実施例のレーザー走査型顕微鏡の構成を示す図である。

【図 2 4】

非球面トーリック面の反射型波面変換素子を有する対物レンズ走査型顕微鏡のシミュレーションモデル図である。

【図 2 5】

反射型波面変換素子が自由曲面型である場合の最適化した反射面形状の等高線図である。

【図 2 6】

図 2 5 の最適化された自由曲面から最適化されたトーリック面を差し引いた形状の等高線図である。

【図 2 7】

ビームスプリッターによって光路分割をする従来の顕微鏡の構成を示す図である。

【図 2 8】

ビームスプリッターによって光路分割をする従来の 2 光子顕微鏡の構成を示す図である。

【符号の説明】

1 … 半導体レーザーチップ

- 2 …照明光
- 3 …観察光
- 4 …コリメーションレンズ
- 5 …波面変換素子
- 6 …レーザー光源
- 7 …対物レンズ
- 8 …対物レンズアクチュエータ
- 9 …試料
- 1 1 …+側移動焦点
- 1 2 …-側移動焦点
- 1 3 …発散光波面
- 1 4 …収束光波面
- 1 5 …補正前照明光
- 1 6 …補正後観察光
- 1 7 …補正後照明光
- 1 8 …補正前観察光
- 2 0 …ビームエキスパンダー
- 2 1 …ビームスプリッター
- 2 2 …凸レンズ
- 2 3 …開口を有する反射プリズム
- 2 4 …反射面
- 2 5 …開口
- 2 6 …反射型波面変換素子
- 2 7 …コリメーションレンズ
- 2 8 …凸レンズ
- 2 9 …光検出器
- 3 0 …凸レンズ
- 3 1 …反射面を有するプリズム
- 3 2 …反射面

3 3 … コリメーションレンズ

3 4 … 支持部材

3 5 … コリメーションレンズ

3 6 … 光ファイバー

3 7 … 凸レンズ (コリメーションレンズ)

3 8 … 主光線

3 9 … 理想波面

4 0 … 投影面

4 1 … 投影面

4 2 … 開口を有する反射鏡

4 3 … 光学素子

4 4 … 反射型波面変換素子 (トーリック面波面変換素子)

4 5 … 対物レンズ瞳

4 6 … 瞳リレー光学系

4 7 … ガルバノミラー

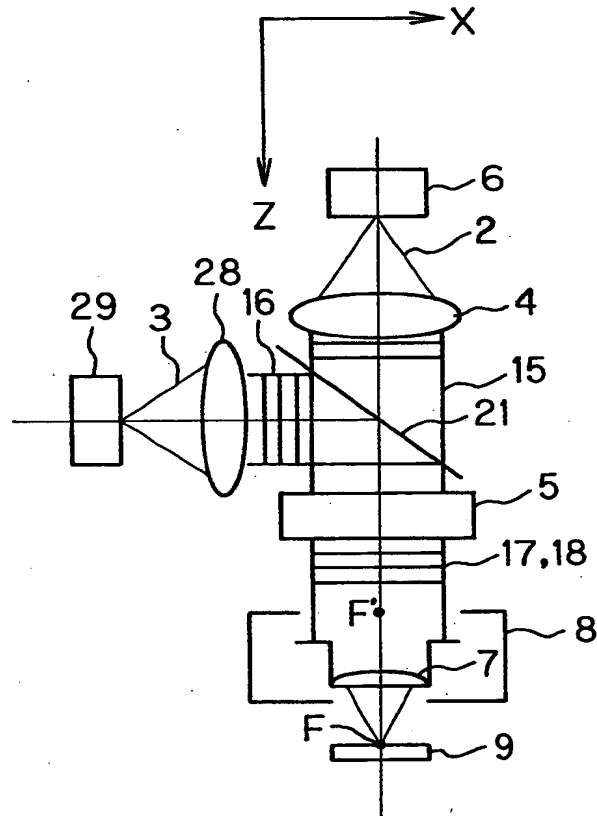
4 8 … 絞り

F … 物体側焦点

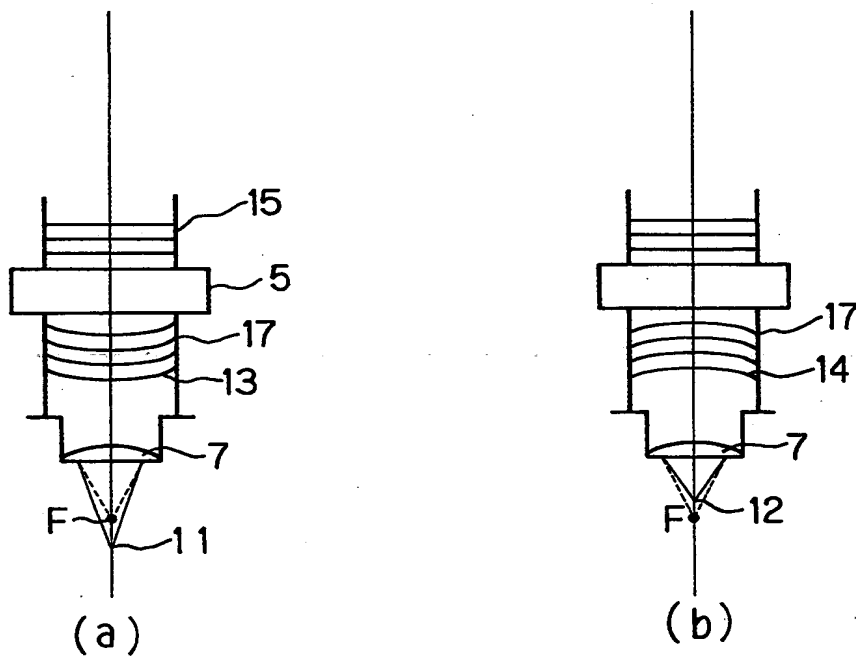
Q … 集光点

【書類名】 図面

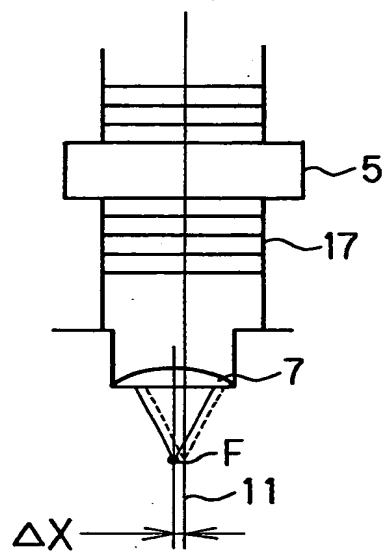
【図 1】



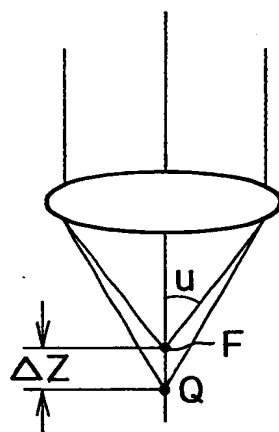
【図 2】



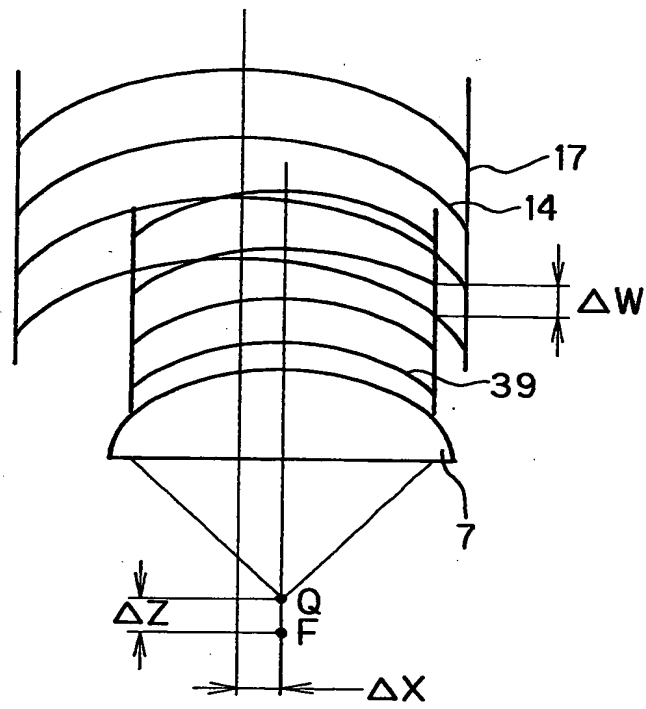
【図 3】



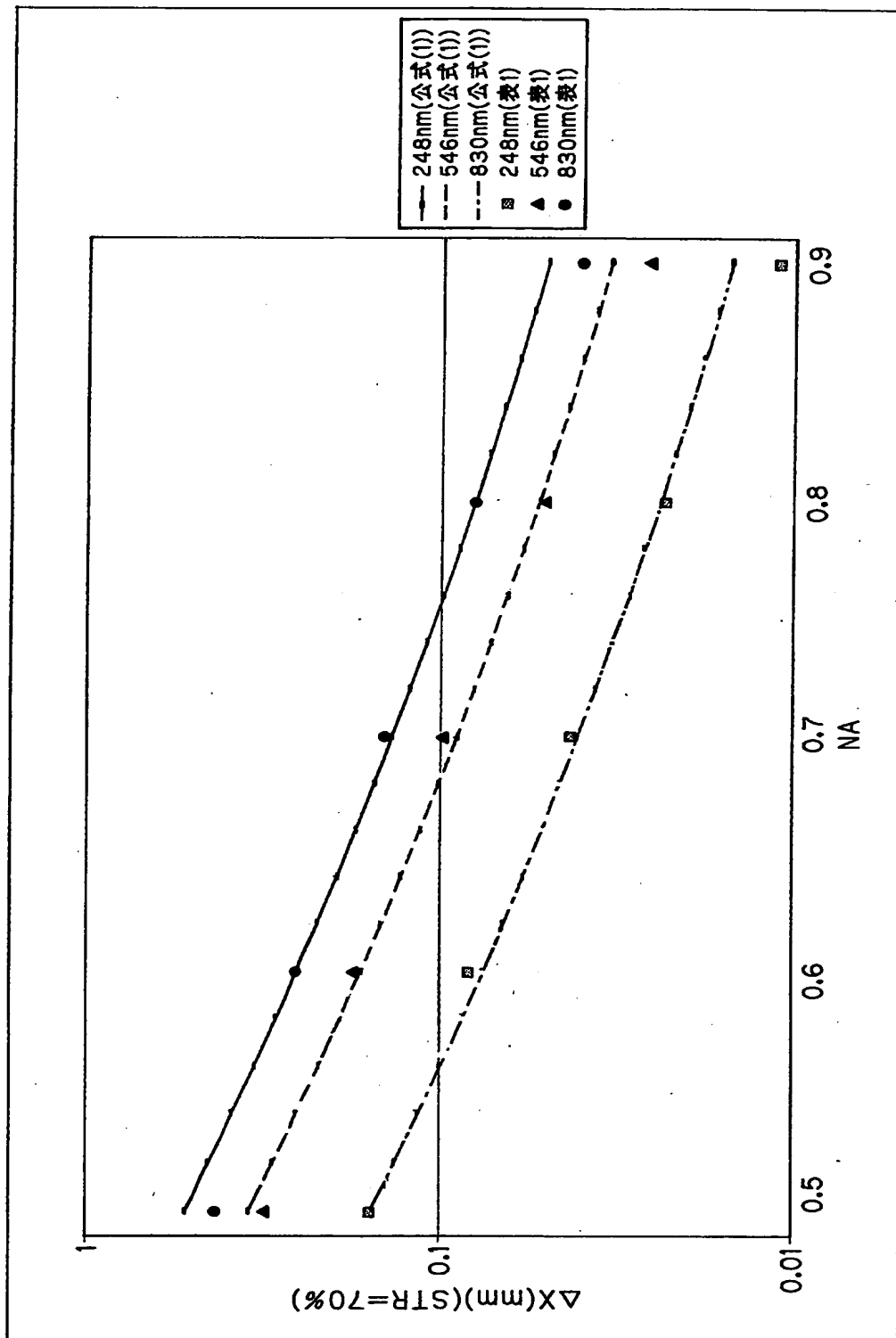
【図 4】



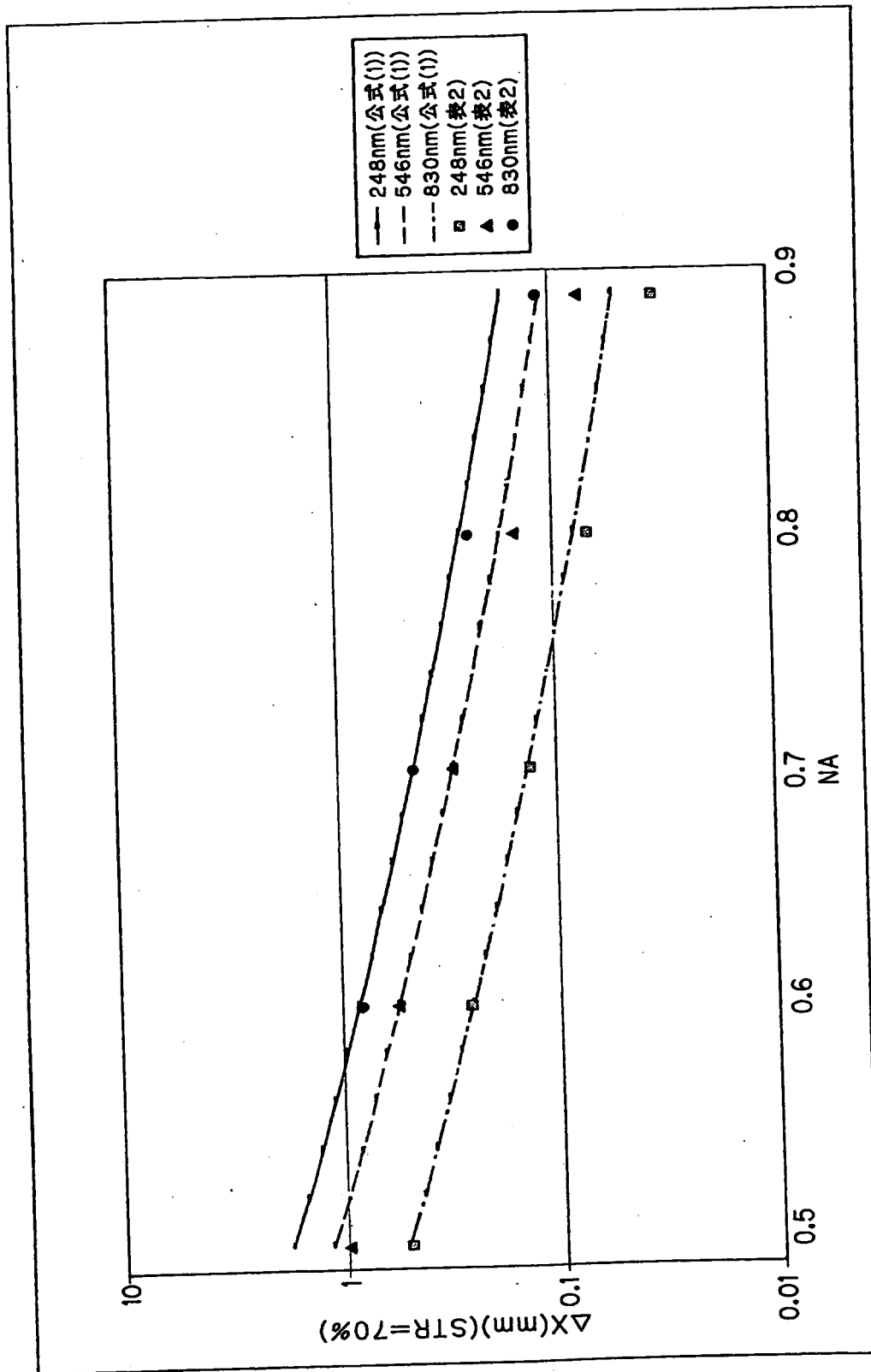
【図 5】



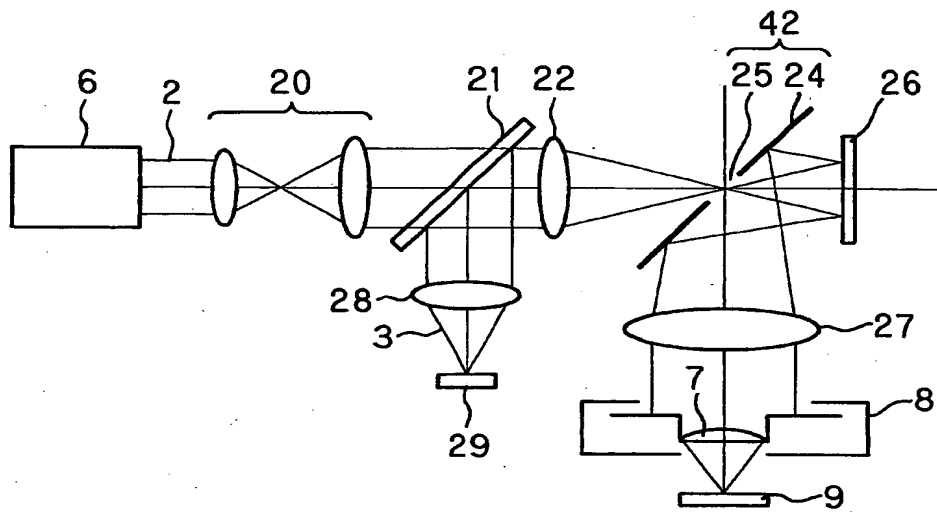
【図 6】



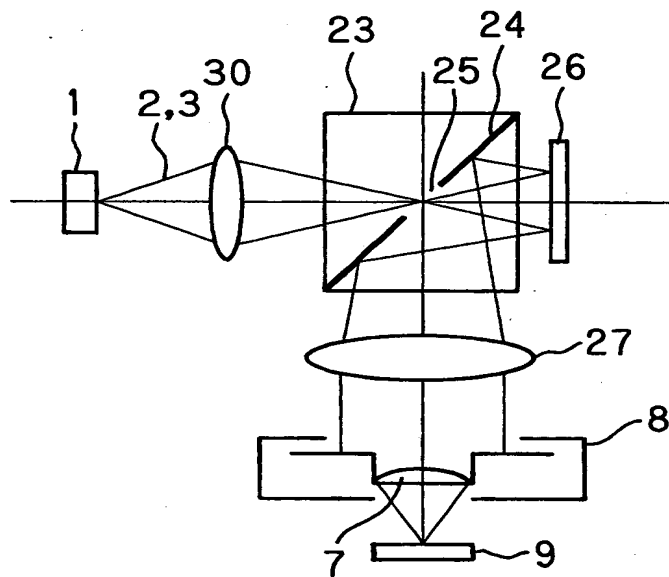
【図7】



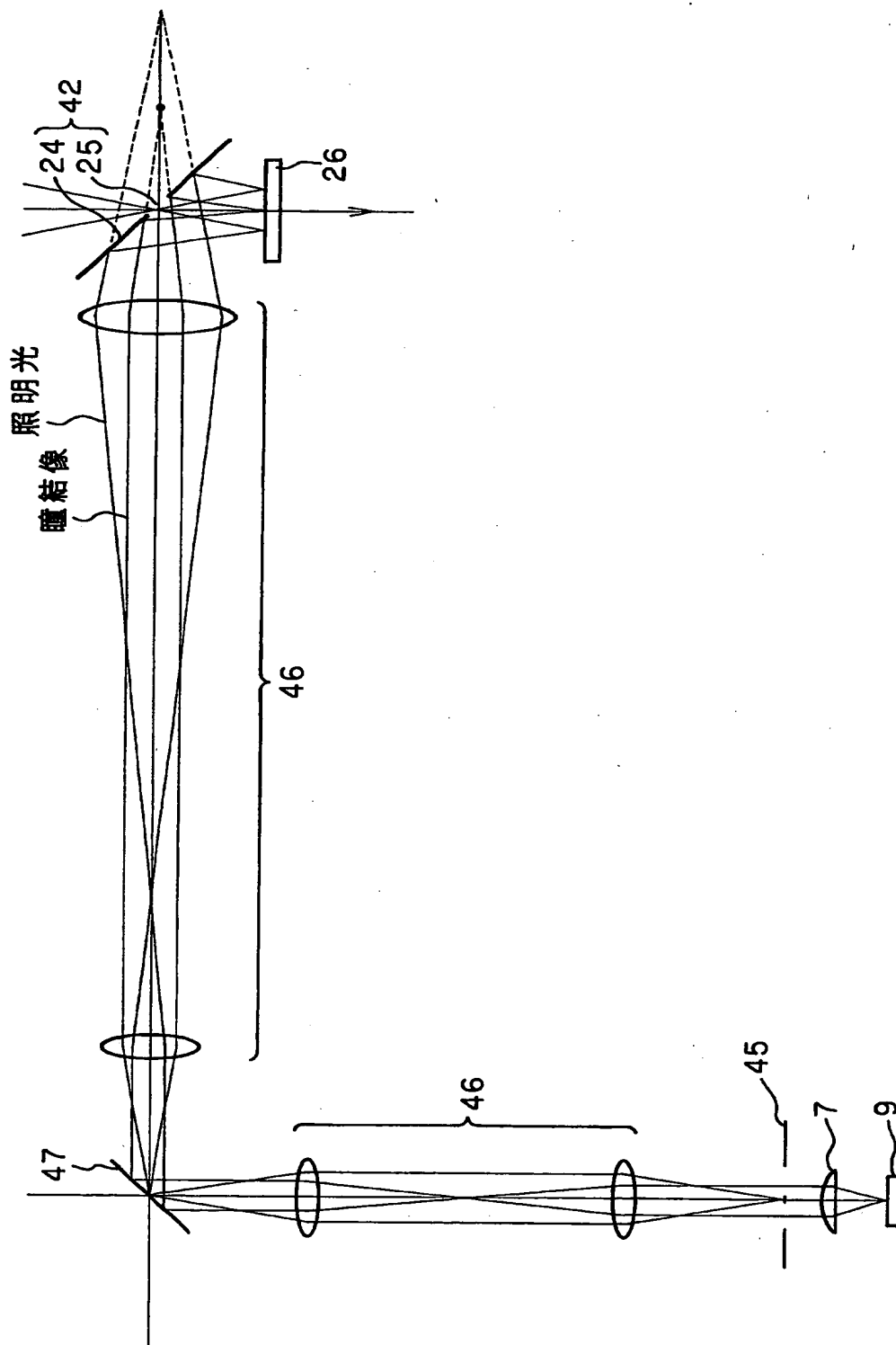
【図 8】



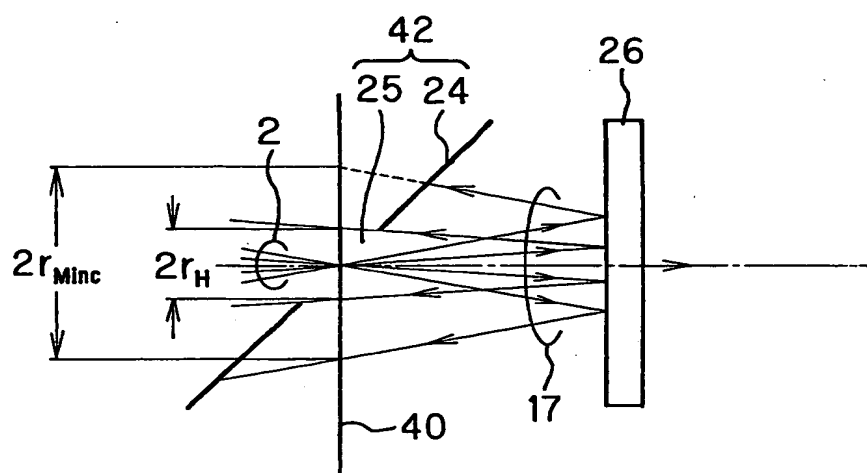
【図 9】



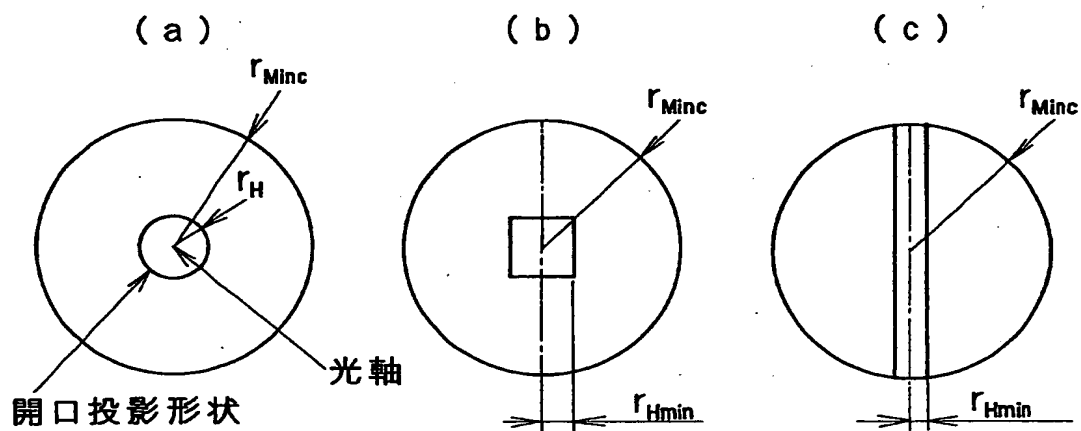
【図 10】



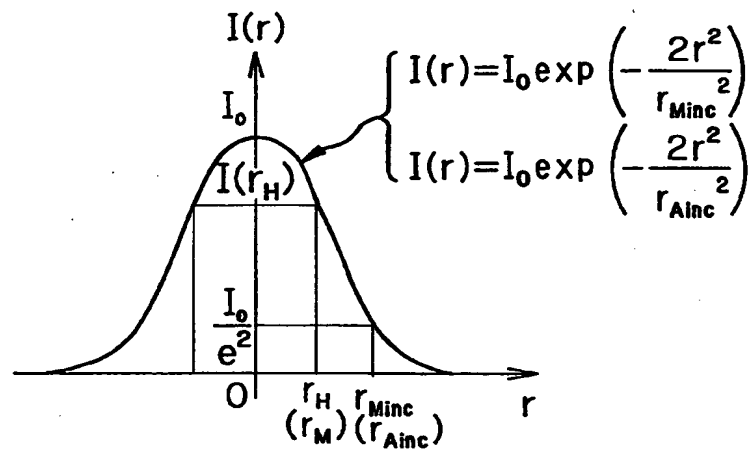
【図 1 1】



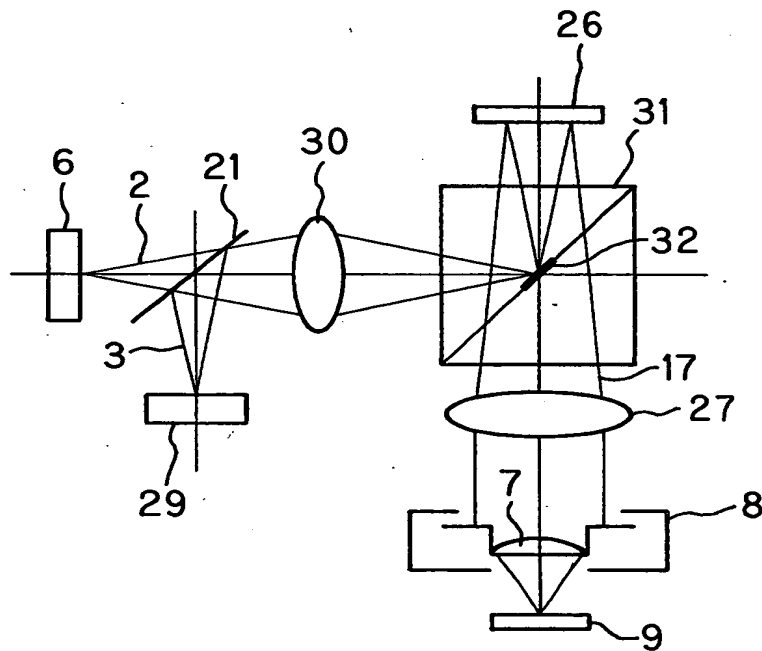
【図 1 2】



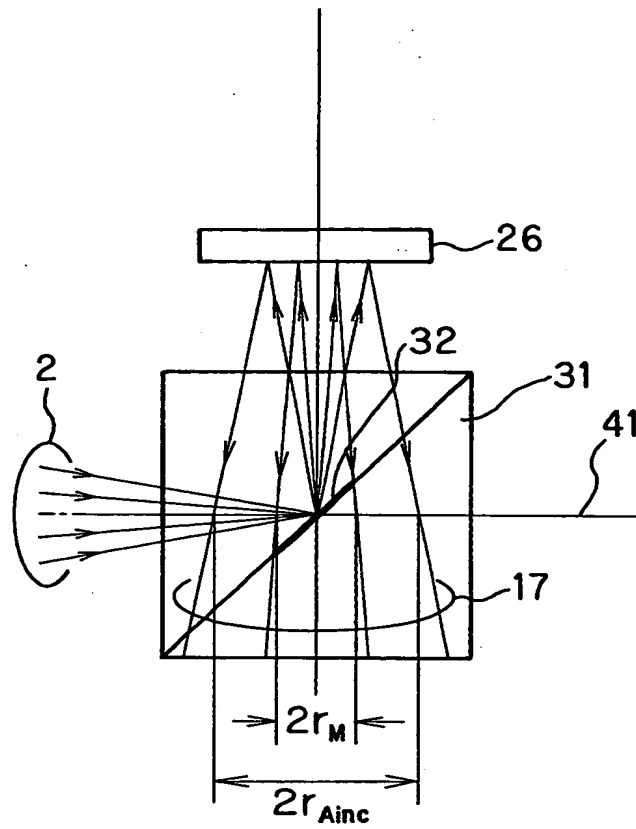
【図 13】



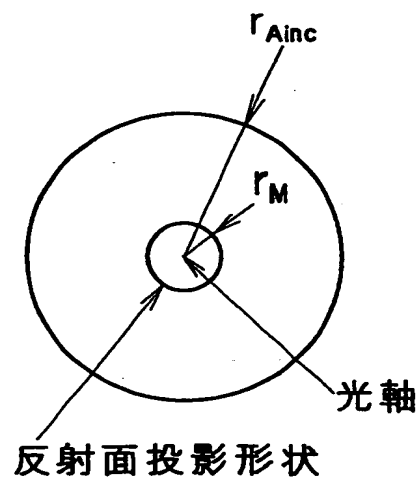
【図 14】



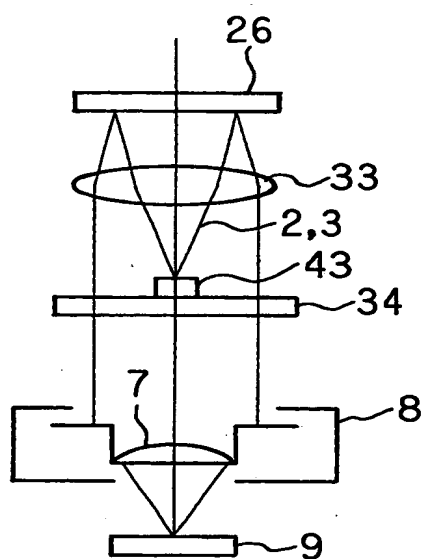
【図 15】



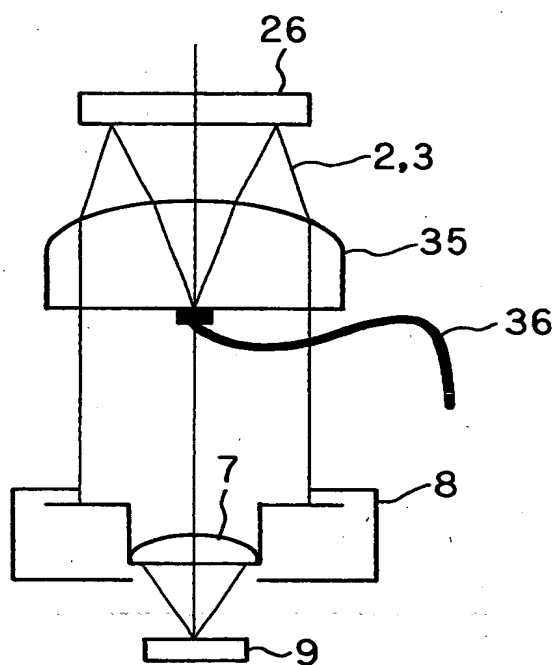
【図 16】



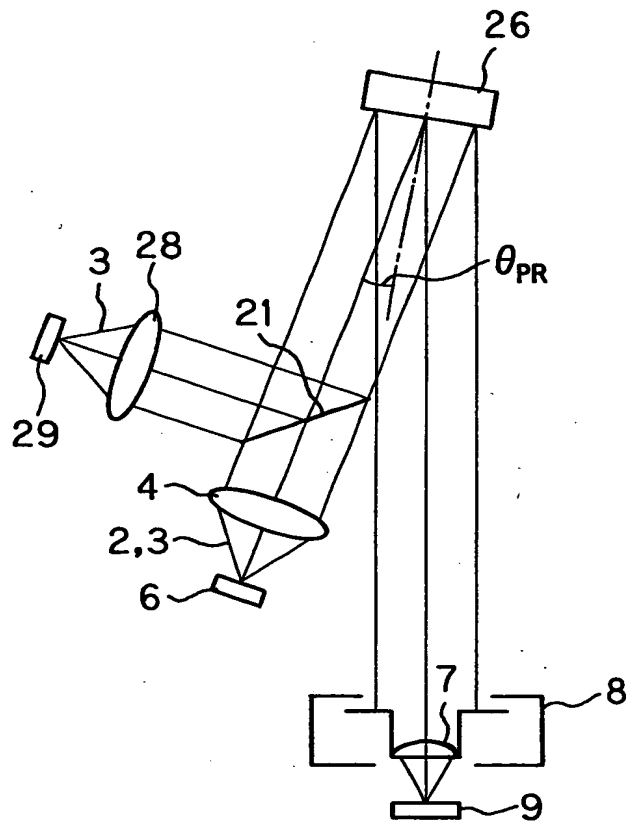
【図17】



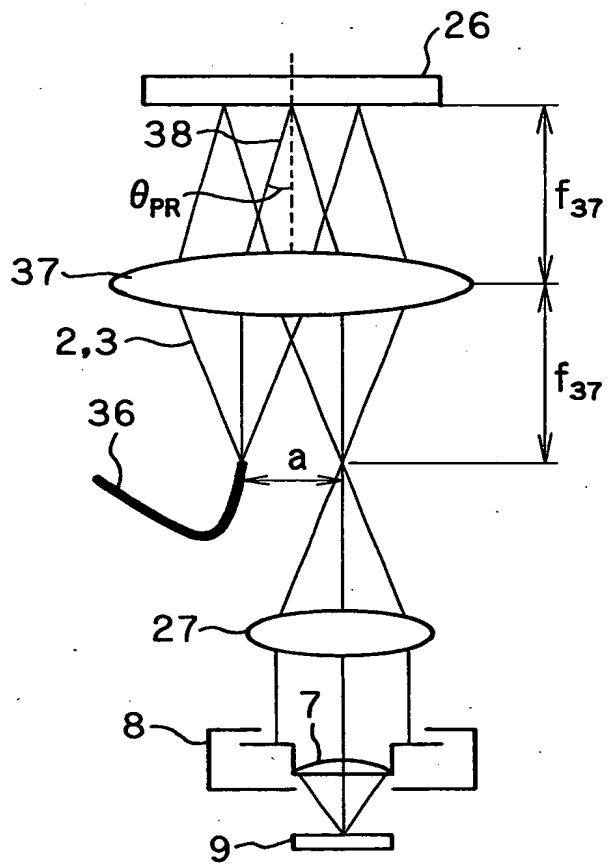
【図18】



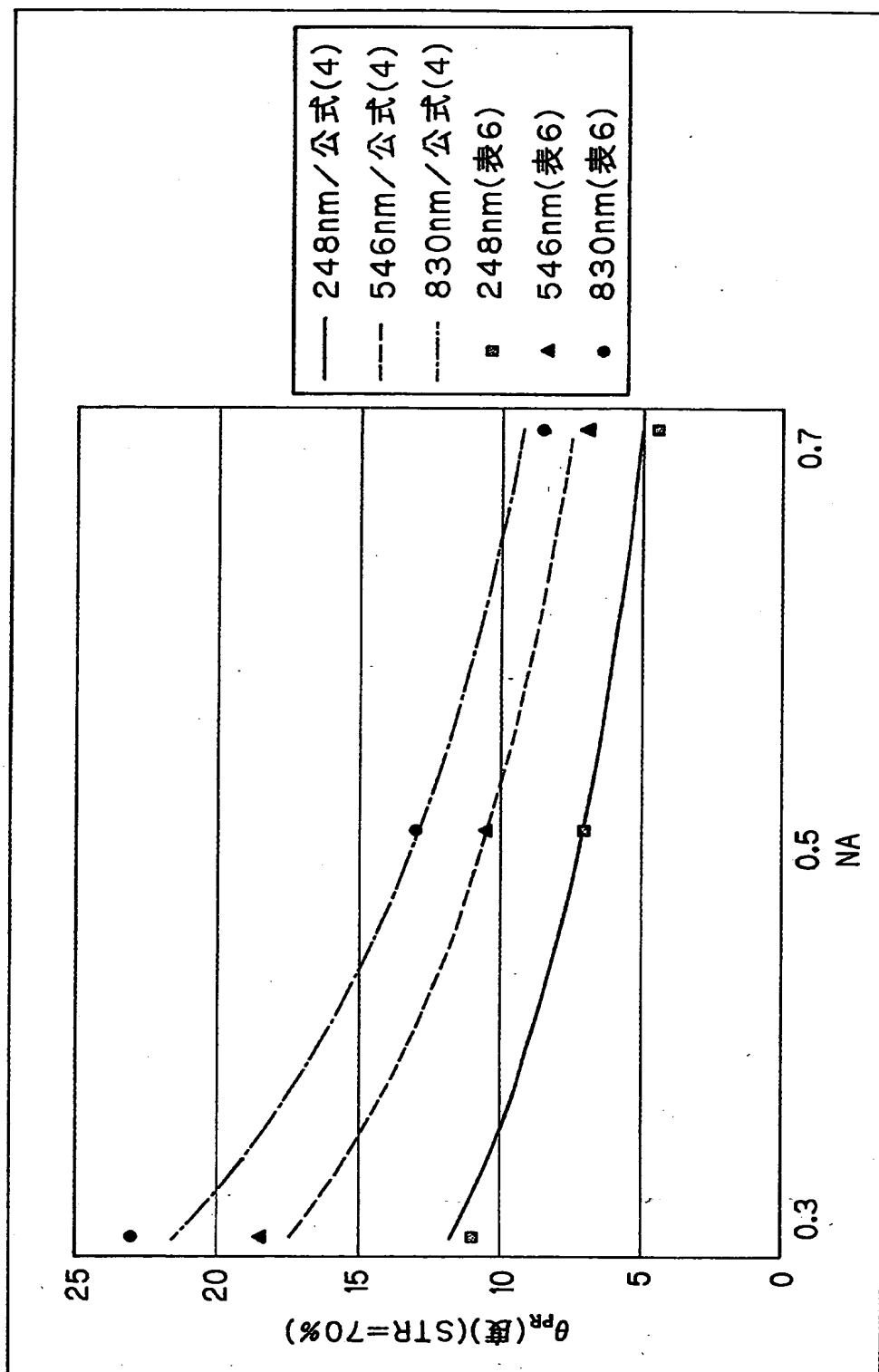
【図19】



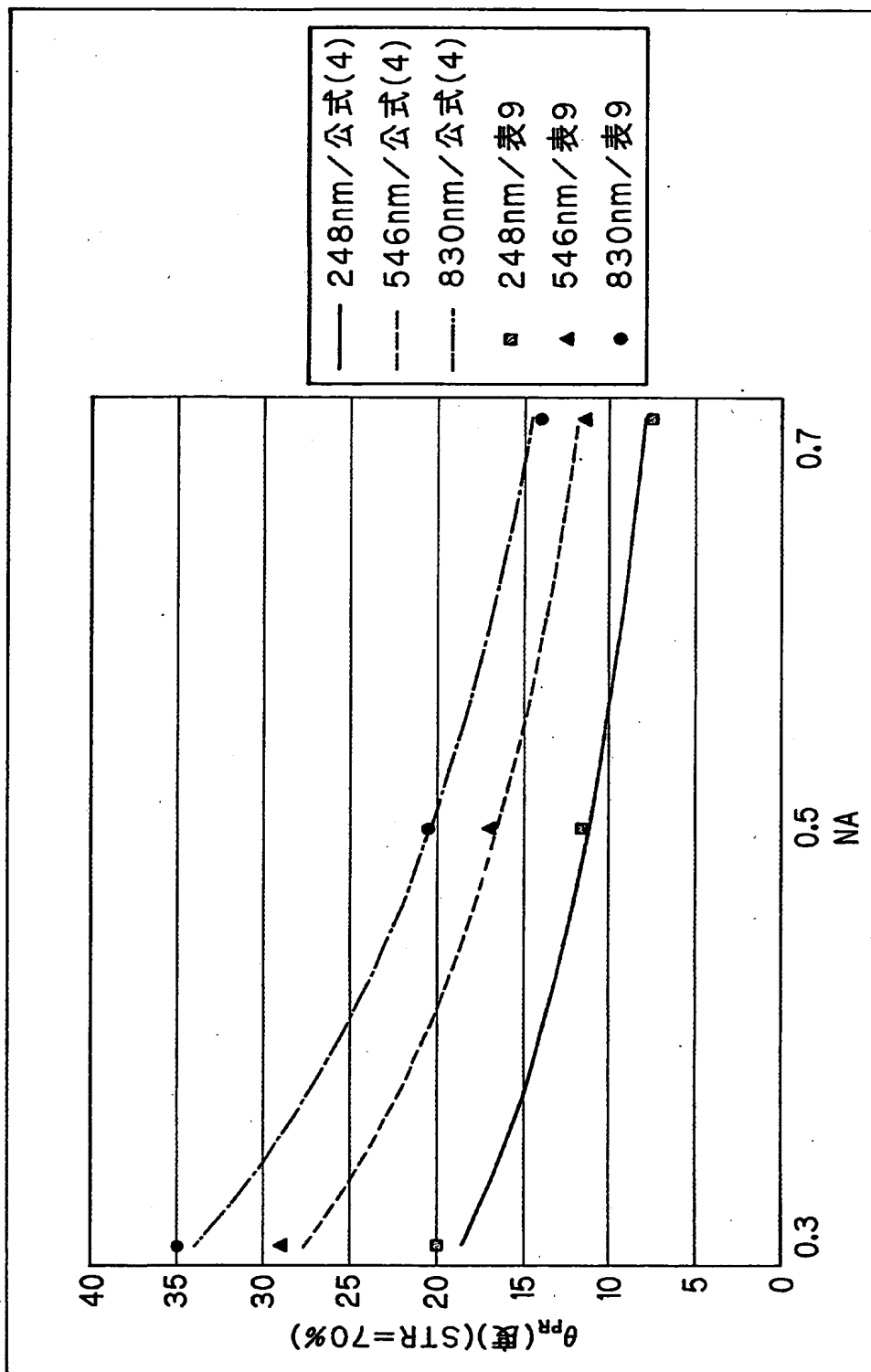
【図20】



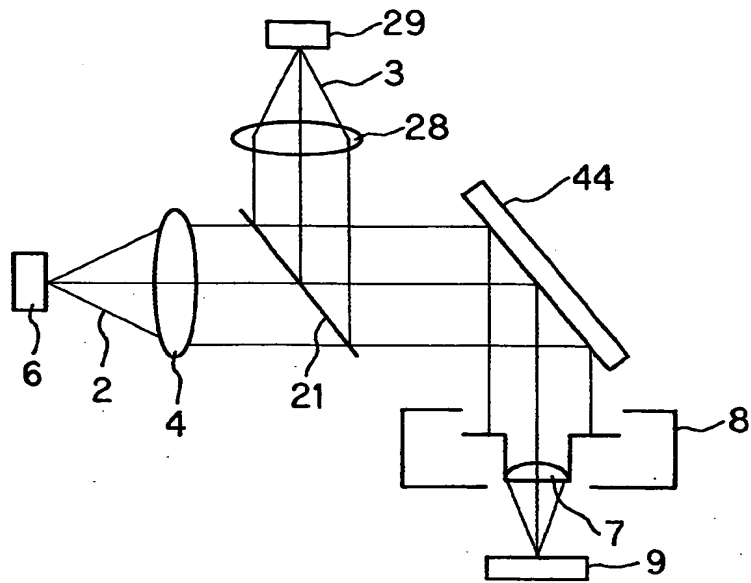
【図 21】



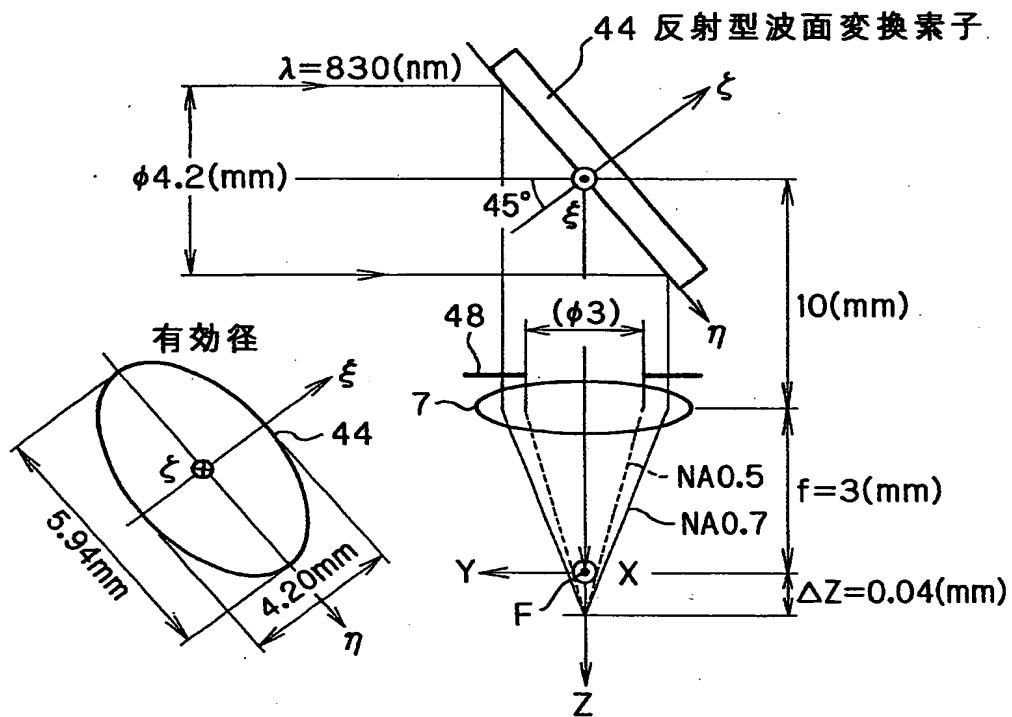
【図 22】



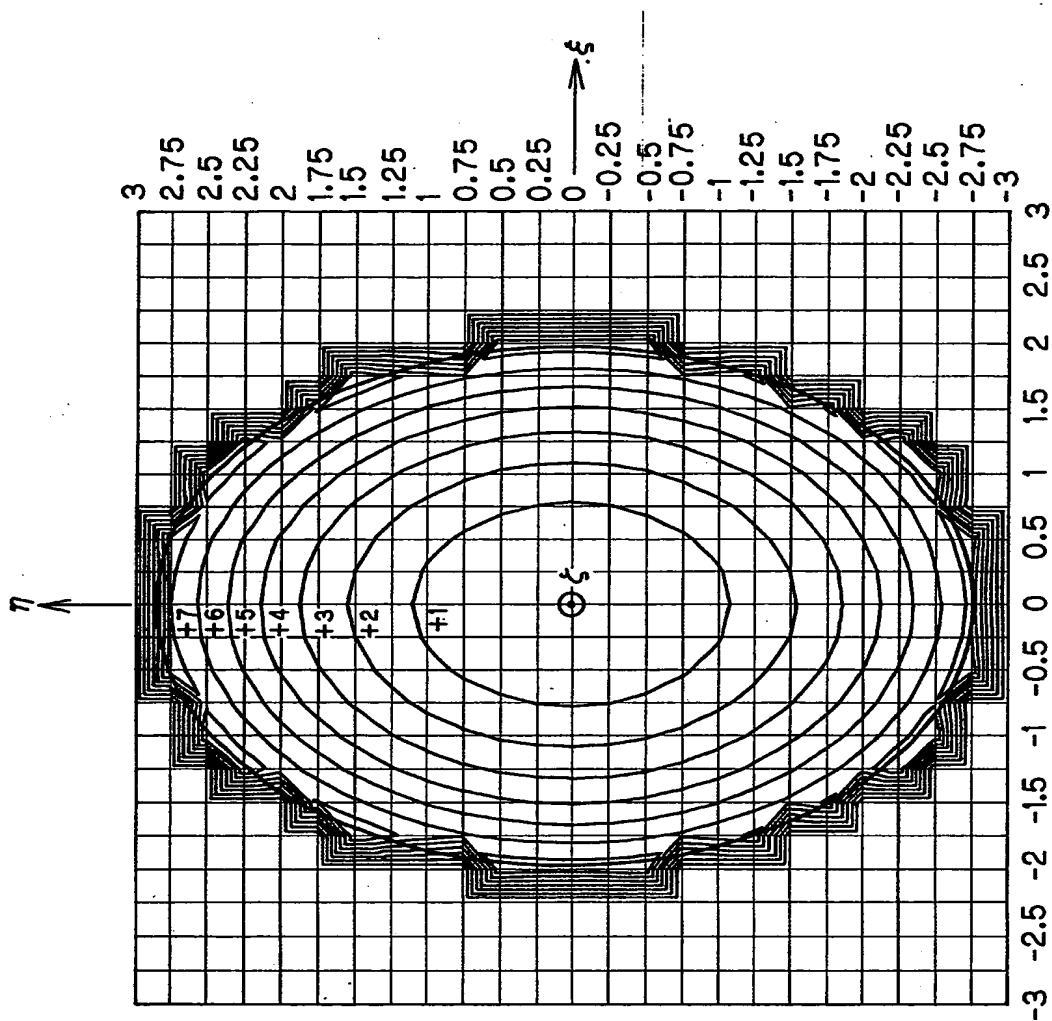
【図 23】



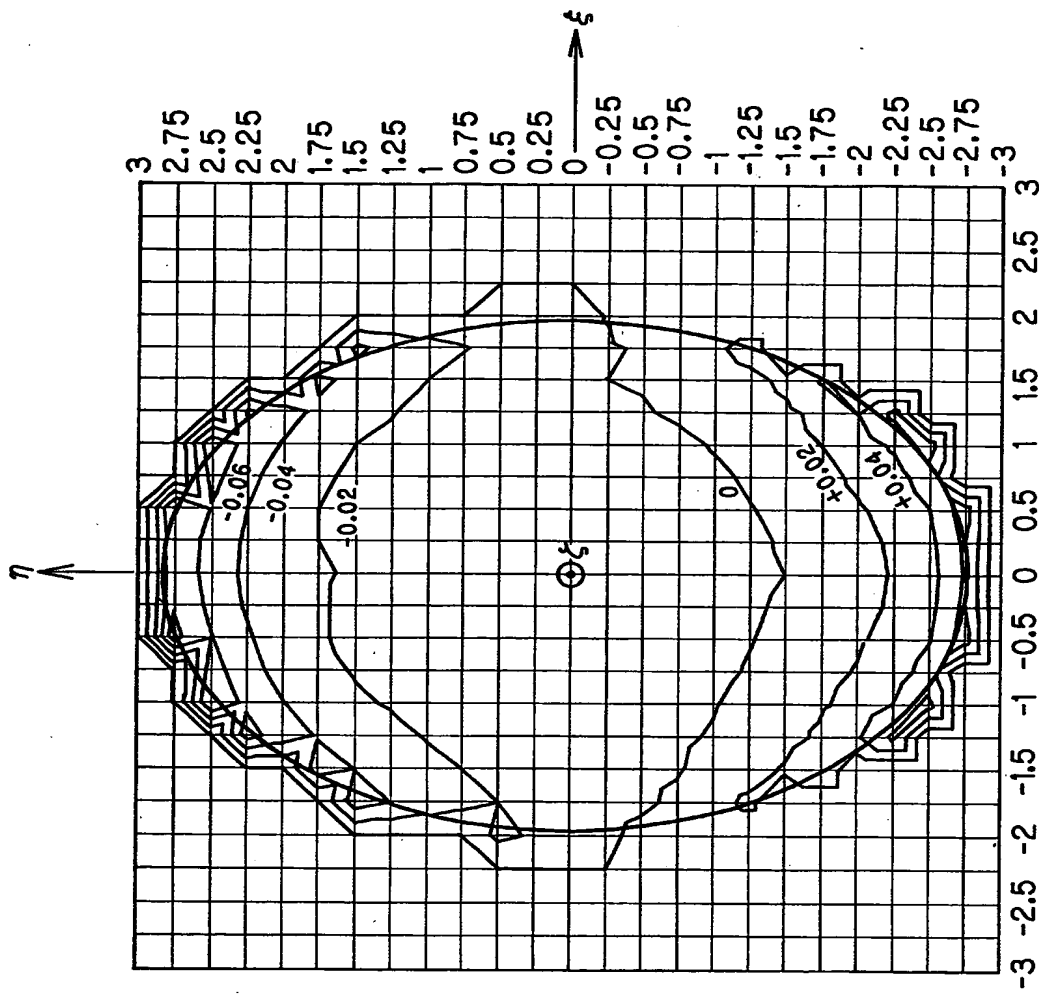
【図 24】



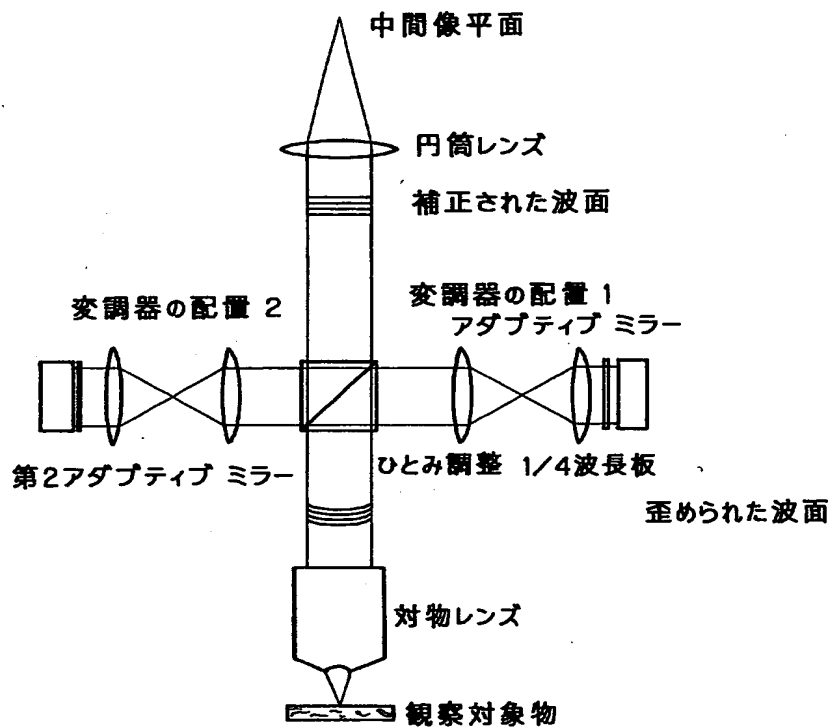
【図 25】



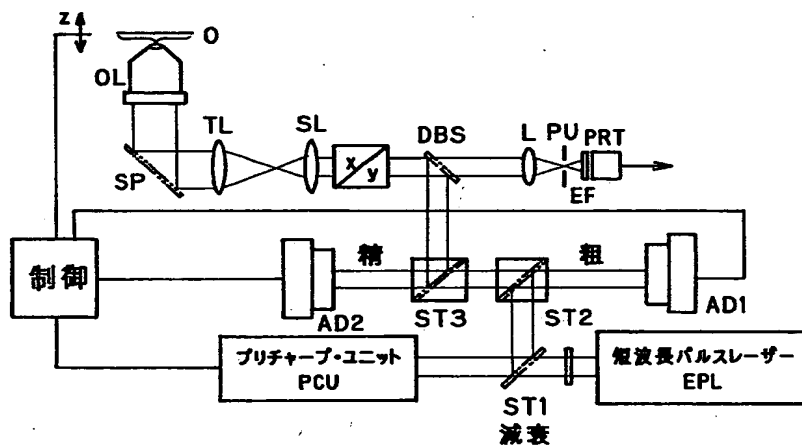
【図 26】



【図 27】



【図 28】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 軸外での性能劣化が少なく、波面変換素子の制御方法が簡単で、瞳リレー光学系の構成が簡単か不要な波面変換素子を用いた走査型光学顕微鏡

【解決手段】 レーザー発振器 6 と、レーザー発振器 6 から発するレーザービーム 1 5 に任意の波面変換を与える波面変換素子 5 と、波面変換素子 5 から発する波面変換後の略平行なレーザービーム 1 7 を試料 9 に集光する対物レンズ 7 と、試料 9 から発する信号光を検出する検出器 2 9 と、対物レンズ 7 を光軸と直交する方向に走査するアクチュエーター 8 とを有するレーザー走査型顕微鏡。

【選択図】 図 1

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000000376]

1. 変更年月日	1990年 8月20日
[変更理由]	新規登録
住 所	東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号
氏 名	オリンパス光学工業株式会社